UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE GENETISCHEN FAKTOREN DER LICHTABHÄNGIGKEIT DES PAARUNGSVERHALTENS VON DROSOPHILA SUBOBSCURA COLLIN MIT HILFE VON ALLOZYMVARIANTEN UND CHROMOSOMALEN INVERSIONSSTRUKTUREN

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Biologie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von
Rita Aldinger-von Kleist, geb. Aldinger
aus Waiblingen

1982

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE GENETISCHEN FAKTOREN DER LICHTABHÄNGIGKEIT DES PAARUNGSVERHALTENS VON DROSOPHILA SUBOBSCURA COLLIN MIT HILFE VON ALLOZYMVARIANTEN UND CHROMOSOMALEN INVERSIONSSTRUKTUREN

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Fakultät für Biologie
der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

vorgelegt von
Rita Aldinger-von Kleist, geb. Aldinger
aus Waiblingen

1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 22. Juli 1982

Dekan	Professor Dr. H.-U. Schnitzler
1. Berichterstatter	Professor Dr. D. Sperlich
2. Berichterstatter	Professor Dr. P. Wenk

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	Einleitung	1
II.	Material und Methoden	5
III.	Vergleich des lin-Stammes mit Wildstämmen	17
III. 1.	Das Paarungsverhalten und seine filmische Dokumentation	17
III. 2.	Fekunditätstest	26
III. 3.	Cytologische Analyse	31
III. 4.	Allozymvariabilität	34
III. 5.	Diskussion	39
IV.	Qualitativer Beitrag der Autosomen zur Lichtunabhängigkeit des Paarungsverhaltens in Selektionslinien.	49
IV. 1.	Problemstellung	49
IV. 2	Vorversuche	50
IV. 2. 1.	Herstellung und vergleichende cytologische und elektrophoretische Überprüfung der Experimentalstämme	50
IV. 2. 2.	Inseminationstest	57
IV. 3.	Selektionsexperiment	61
IV. 4.	Ergebnisse	64
IV. 5.	Diskussion	86
V.	Zusammenfassende Diskussion	102
VI.	Zusammenfassung	110
VII.	Literatur	112

I. Einleitung

Abhängig von der Entwicklungshöhe einer Art setzt sich das Ethogramm eines Individuums zu unterschiedlichen Anteilen aus genetisch determinierten Komponenten wie auch aus erlernten Elementen zusammen. Lorenz (1954) wies bereits darauf hin, dass artspezifische Verhaltensweisen eine genetische Grundlage haben und sich evolutiv durch Mutation und Selektion entwickeln können. Er zeigte auch, dass zumindest bei Vertebraten einzelne Verhaltenselemente aus Übersprungsbewegungen zu Auslösern ritualisiert werden können (Lorenz, 1941). Die evolutive Bedeutung des Verhaltens wird ganz besonders im Paarungsverhalten deutlich, das als ethologische Barriere wirkt. Die sexuelle Isolation verhindert dann eine Vermischung der Genpools evolutiv nahe verwandter Arten in sympatrischen Populationen (Dobzhansky et al., 1968). Untersuchungen über sexuelle Isolation wurden bei zahlreichen Tierarten durchgeführt (siehe z.B. Mayr, 1967). Dabei konnte gezeigt werden, dass auch innerhalb einer Art Variationen des Verhaltens, die als "Dialekte" einer noch gemeinsamen Sprache bezeichnet werden können, auftreten. So wurden zum Beispiel bei Vögeln verschiedentlich bei geographisch isolierten Populationen Gesangsdialekte gefunden, die in Gebieten, wo diese sympatrisch sind, als Isolationsmechanismen wirken (Thielcke, 1970). Ähnliche Verhältnisse wurden bei Insekten, wie zum Beispiel Bienen, gefunden (von Frisch, 1977).

Für eine genetische Analyse der Grundlagen des Verhaltens ist nun ein Organismus, wie zum Beispiel Drosophila vorzuziehen, dessen Reaktionsnormen keine zu grossen individuellen Modifikationen zulassen.

Bei Drosophila ist auch das individuelle sexuelle Verhalten relativ starr, jedoch können unterschiedliche Paarungserfolge beobachtet werden, wenn Tiere von geographisch isolierten Populationen getestet werden (Sperlich, 1966). Drosophila erscheint für eine solche Fragestellung zudem besonders geeignet, da der Organismus genetisch gut untersucht ist. Weiter ist auch das Sexualverhalten zahlreicher Arten dieser Gattung beschrieben und verglichen worden (einen Überblick gibt Ehrman, 1978).

Die genetische Analyse des Sexualverhaltens am Beispiel der genetischen Determination von Auslösemechanismen innerhalb des Paarungsspiels ist Gegenstand der vorliegenden Arbeit. Die Untersuchung wurde an D. subobscura, die der obscura-Gruppe von Drosophila zugehört, durchgeführt. Wildstämme von D. subobscura können im Gegensatz zu fast allen anderen Drosophilaarten (Grossfield, 1972) im Dunkeln nicht paaren (Philip et al., 1944); auch zeigen sie dort eine stark verminderte lokomotorische Aktivität (Wallace and Dobzhansky, 1946). Abweichend von allen anderen Arten innerhalb der obscura-Gruppe benötigt D. subobscura für den vollständigen Ablauf der Balz optische Stimulationen (Milani, 1951). Ausserdem konnte der für viele andere Drosophilaarten typische, durch Flügelvibration der Männchen erzeugte, Paarungsgesang bei dieser Art nicht nachgewiesen werden (Ewing and Bennet-Clark, 1968). Kekić und Marinković (1974) fanden ferner, dass bei D. subobscura der Paarungserfolg ganz besonders von der Lichtintensität abhängig ist. Licht scheint dabei für verschiedene Reaktionen während der Balz notwendig. So werden von beiden Partnern während der Balz mit den Flügeln optische Signale gegeben.

Ferner fanden Pinsker und Doschek (1979) bei der Untersuchung von Mutantenstämmen eine eindeutige Korrelation zwischen Paarungserfolg und der spektralen Empfindlichkeit des Auges der jeweiligen Mutanten. Durch stufenweise Reduktion der Lichtintensität gelang es nun Springer (1973) einen Laborstamm von D. subobscura zu selektionieren (= lin-Stamm), dessen Paarungserfolg weitgehend lichtunabhängig ist. Das Balzverhalten dieses Stammes unterscheidet sich also bezüglich der Lichtstimulation wesentlich von dem der Wildtiere von D. subobscura.

Mit Hilfe dieses Stammes scheint nun die Möglichkeit gegeben, die genetische Determination einer wichtigen Komponente der Balz, nämlich die Lichtabhängigkeit, zu untersuchen. Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurde dazu der lin-Stamm mit verschiedenen Methoden genetische untersucht und die Ergebnisse mit denen von Wildstämmen von D. subobscura verglichen. Zunächst wurde das Werbungs- und Paarungsverhalten des lin-Stammes und eines Wildstammes durch Filmaufnahmen dokumentiert und verglichen. Dann wurde die Fekundität, die eine wichtige Fitnesskomponente darstellt, untersucht. Schliesslich wurden die möglichen genetischen Unterschiede zwischen dem lin-Stamm und verschiedenen Wildstämmen für verschiedene Enzymloci und in Hinsicht auf die chromosomalen Strukturtypen analysiert.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde mit Hilfe von Selektionsexperimenten der Anteil der vier Autosomen von D. subobscura an der Verhaltensänderung untersucht. Dazu wurden Tiere des lin-Stammes mit Tieren von Laborstämmen eingekreuzt und die Nachkommen über mehrere Generationen im Dunkeln, bzw. im Licht gehalten. Als Markierung für die eingebrachten Wild-

chromosomen wurden in diesem Experiment Enzymallele und chromosomale Strukturtypen gewählt, da angenommen werden kann, dass sichtbare Mutanten das zu untersuchende Verhalten direkt beeinflussen. Da die Frequenzverschiebungen der markierten Chromosomen im Laufe der Generationen verfolgt und gleichzeitig der Paarungserfolg der Tiere unter Lichtausschluss getestet wurde, konnte so eine mögliche Korrelation zwischen Selektionserfolg und Schicksal der substituierten Chromosomen erkannt werden.

II. Material und Methoden

Im Mittelpunkt der Untersuchungen stand ein Laborstamm von D. subobscura mit lichtunabhängigem Paarungsverhalten (= lin-Stamm), der durch stufenweise Reduktion der Lichtintensität über 14 Generationen aus einem Wildstamm gezüchtet worden war (Springer, 1973). Um einen ständigen Selektionsdruck für lichtunabhängige Paarung aufrechtzuerhalten, musste im folgenden der lin-Stamm in lichtundurchlässigen Kulturkästen mit einem geeigneten Belüftungs- und Befeuchtungssystem gehalten werden. Zu diesem Zwecke wurden verschliessbare Holzkästen mit den Innenmassen 40 x 28 x 13 cm angefertigt, in welche 28 Kulturbecher gestellt werden konnten. Innen und aussen waren diese Kästen mit schwarzer Farbe angestrichen, damit sie absolut lichtundurchlässig waren. An einer Seite des Kastens wurde ein Metallrohr eingelassen, über welches durch einen Gummischlauch, der mit einer Zuluftanlage verbunden war, ständig frische Luft zugeführt wurde. Hinter dem Eingang des Metallrohres wurde ein Kunststoffgefäss in den Kasten gestellt, das mit Wasser gefüllt war. Die einströmende Luft bewirkte so eine Verteilung des verdunstenden Wassers im ganzen Kasten.

Die sexuelle Aktivität von D. subobscura wurde bei langwelligem Licht (>600 nm) überprüft, indem Tiere unter verschiedenen Lichtbedingungen in Observationskammern nach Elens und Wattiaux (1964) direkt beobachtet wurden. Ausserdem wurden je 50 jungfräuliche Paare des lin-Stammes und eines Wildstammes unter sonst normalen Kulturbedingungen einem Dauerrotlicht von >610 nm (Photolaborlampe Philips E 27 PF 712 E) für 12 Tage ausgesetzt. Licht dieser Wellenlänge reicht für Drosophila allgemein nicht mehr aus, Konturen wahrzunehmen (Heisenberg and Buchner, 1977). Da keine Larven in den Kulturen des Wildstammes aufzufinden waren, konnte es als bewiesen gelten, dass Rotlicht dieser Wellenlänge nicht mehr

ausreicht, das normale Paarungsverhalten auszulösen. Auf Grund der oben geschilderten Beobachtungen konnte davon ausgegangen werden, dass der lin-Stamm bei Rotlicht von >610 nm manipuliert werden kann, ohne dass dabei unkontrollierte Paarungen stattfinden.

Für die genetische Analyse wurden Kreuzungen zwischen Wildstämmen und dem lin-Stamm angesetzt. Die Beschreibung der verwendeten Stämme, die Kulturhaltung, die Überprüfung der erfolgreichen Kopulation, die Chromosomen-Präparation und die elektrophoretischen Methoden, die bei den späteren Analysen eingesetzt wurden, sollen im folgenden beschrieben werden.

1) Versuchsstämme:

Folgende Laborstämme von D. subobscura wurden zum Vergleich bzw. für die Experimentalpopulationen verwendet:

Tü - Wildstamm aus Wildfängen in Tübingen 1978

Fo - Wildstamm, der 1980 in Formia (Italien) gefangen wurde und erst seit 5 Generationen im Labor gehalten worden war.

W-66 - Laborstamm aus Wien (Wildfänge 1966), aus dem der lin-Stamm selektioniert worden war.

lin^{L20} - lin-Stamm seit 20 Generationen im Licht gehalten, d.h. ohne Selektionsdruck auf die Fähigkeit, sich im Dunkeln fortpflanzen zu können.

Kü - Standardstamm für elektrophoretische und cytologische Bestimmungen (Lankinen und Pinsker, 1977)

wild (E) x lin - Laborstamm, homozygot für das Allel 108 des Enzymgens für Phosphoglucoisomerase (E-Chromosom)

wild (I) x lin - Laborstamm, homozygot für das Allel 97 des Enzymgens für Phosphoglucomutase (I-Chromosom)

wild (O) x lin - Laborstamm, homozygot für das Allel 103 des Enzymgens für decarboxilierende Malatdehydrogenase (O-Chromosom)

wild (U) x lin - Laborstamm, homozygot für das Allel 105 des Enzymgens für Malatdehydrogenase (U-Chromosom)

(Bezüglich der Bezeichnung der Enzymvarianten und Chromosomen siehe Abschnitt 4 bzw. 5)

2) Kulturhaltung:

Die Stämme wurden auf dem üblichen Drosophila-Nährmedium gezüchtet. Es wurden Kulturgefässe aus Kunststoff verwendet. Als Verschluss dienten luftdurchlässige Ceaprenstopfen. Die Kulturen wurden bei einer Temperatur von 18°C gehalten.

Für die Experimente war es notwendig, virginelle Tiere zu erhalten. Dazu wurden von Beginn des Schlüpfens an alle 24 Stunden sämtliche Fliegen aus den Kulturbechern entfernt und nach Geschlechtern getrennt. Da D. subobscura erst im Alter von 3 Tagen kopulationsfähig ist (Rendel, 1945), konnte so eine Vorbefruchtung ausgeschlossen werden. Weibliche und männliche Tiere wurden dann 7 Tage lang separiert aufbewahrt bevor sie zu Versuchen eingesetzt wurden, da sie ihre volle sexuelle Aktivität erst im Alter von einer Woche erreichen (Monclus and Prevosti, 1971). Die Becher, in denen die Weibchen aufbewahrt worden waren, wurden zur Sicherheit nach 2 weiteren Wochen auf Nachkommenschaft kontrolliert, um etwaige Versuchsfehler durch doch vorbefruchtete Weibchen aufzudecken.

Die Tiere wurden normalerweise mit CO_2 narkotisiert. Für die Experimente, in denen das Paarungsverhalten getestet oder beobachtet werden sollte, wurde eine Betäubungsmethode gesucht, die das Verhalten möglichst wenig beeinträchtigen sollte.
Von den zur Verfügung stehenden Methoden:

CO_2, Kälteschock und Aether

wurde schliesslich in Vorversuchen eine möglichst kurzfristige, unvollständige Narkotisierung mit Aether ausgewählt.

3) Präparation der weiblichen Sexualorgane:

Die Weibchen wurden nach kurzer Betäubung durch Zusammendrücken des Thorax mit einer Pinzette getötet. Dann wurden mit zwei Präpariernadeln die inneren Geschlechtsorgane in einem Tropfen Ringer-Lösung nach Waddington herauspräpariert und mikroskopisch bei 400-facher Vergrösserung untersucht.

Ringer-Lösung für Insekten nach Waddington:

Lösung A:	3,750	g NaCl
	0,132	g $CaCl_2 \times 2\ H_2O$
	0,050	g KCl
	50	ml H_2O
Lösung B:	0,100	g $NaHCO_3$
	50	ml H_2O

Die gebrauchsfertige Lösung ist frisch herzustellen aus:

1 Teil A + 1 Teil B + 8 Teile H_2O.

Die beiden Lösungen A und B können im Kühlschrank einige Wochen lang aufbewahrt werden.

4) Allozymelektrophorese:

Zur Allozymuntersuchung wurde die Methode der horizontalen Stärkegelelektrophorese nach Ayala et al. (1972) verwendet. Die Enzymnachweise wurden nach Angaben von Shaw and Prasad (1970) durchgeführt. Die Bezeichnung der Allele richtete sich nach dem System von Saura et al. (1973).
Zwei verschiedene Puffersysteme wurden verwendet:

1) Das Poulik-System bei einer Stromstärke von 50 mA und einer Laufzeit von 7 Stunden für die Auftrennung der Allozyme von Ao, Adh, Aph und Lap.
2) Im Tris-Citronensäuregel (pH 7,1) wurden bei einer Stromstärke von 35 mA und einer Laufzeit von 6 Stunden die Allele der Enzymsysteme Me, Mdh, Pgm, Phi, αGpdh und Hk aufgetrennt.

Folgende Rezepte wurden verwendet:

Poulik-System

Gel:	25	g Electro-Starch-Gel Nr. lot# 307
	30	g Sigma-Gel Nr. S-4501 Stärke
	100	ml Gelpuffer
	300	ml H_2O bidest
Gelpuffer:	37,2	g Tris (hydroxymethyl) aminomethan
	4,8	g Zitronensäure
	1,0	l H_2O bidest
Elektroden-puffer:	182	g Borsäure
	24	g Natriumhydroxid
	10	l H_2O bidest

Tris-Zitronensäuregel

Gel:	23	g	Electro-Starch-Gel Nr. lot# 307
	27	g	Sigma-Gel Nr. S-4501 Stärke
	100	ml	Gelpuffer
	300	ml	H_2O bidest
Gelpuffer:	267	ml	Elektrodenpuffer
			H_2O bidest ad 1,0 l
Elektroden-puffer:	163,5	g	Tris (hydroxymethyl) amino-methan
	90,3	g	Zitronensäure
	10	l	H_2O bidest

Puffer für Färbelösung:

Tris/HCl 7,5	18	g	Tris (hydroxymethyl) amino-methan
	1	l	H_2O bidest
			1M-HCl bis pH 7,5
Tris/HCl 8,5	24,2	g	Tris (hydroxymethyl) amino-methan
	1	l	H_2O bidest
			1M-HCl bis pH 8,5

Färbelösungen:

Adh = Alkoholdehydrogenase und Odh = Octanoldehydrogenase

4 ml Aethanol/Octanol/Isopropanol 1:1:2
25 mg NBT
25 mg NAD

3 mg PMS
100 ml Tris/HCl 8,5

Ao = Aldehydoxidase

1 ml Benzaldehyd Fluka 12010
25 mg NBT
25 mg NAD
100 mg KCl
5 mg PMS
100 ml EDTA-Tris-Boratpuffer pH 8,6

Stammlösung:

0,74 g EDTA, 3,09 g Borsäure, 10,91 Tris, 100 ml H_2O bidest verdünnen 1:20

Aph = Alkalische Phosphatase

100 mg Fast Blue BB-Salz Serva 21272
250 mg Polyvinylpyrrolidon Serva 33410
60 mg $MgCl_2$
60 mg $MnCl_2$
2 g NaCl
100 mg α-Naphtylacidphosphat-Natriumsalz Sigma N-7000
25 mg EDTA
100 ml Tris/HCl 8,5

α-Gpdh = α-Glycerophosphatdehydrogenase

400 mg DL-α-Glycerinphosphorsäure-Natriumsalz Serva 23320
25 mg NBT
25 mg NAD
5 mg PMS
100 ml Tris/HCl 8,5

Hk = Hexokinase

600 mg D-Glucose Serva 2270
20 mg NBT
25 mg NADP
100 mg $MgCl_2$ Merck 5833
300 mg Adenosin-5'-Triphosphat
Boehr. Mannh. 127 531
200 u G-6-pdh
100 ml Tris/HCl 7,5

Lap = Leucinaminopeptidase

70 mg L-Leucin-2-Naphtylamid-HCl
Serva 27730
40 mg Fast Black K-salt Serva 21260
25 mg EDTA
100 ml Lap-Puffer pH 4,7:
4,0 g NaOH, 8,4 g Maleinsäureanhydrid, 100 ml H_2O bidest

Mdh = Malatdehydrogenase

100 mg L-Äpfelsäure-Natriumsalz
25 mg NBT
25 mg NAD
25 mg EDTA
5 mg PMS
100 ml Tris/HCl 8,5

Me = Decarboxilierende Malatdehydrogenase

50 mg L-Äpfelsäure-Natriumsalz Serva 11064
20 mg NBT
20 mg NADP
100 mg $MgCl_2$
25 mg EDTA
5 mg PMS
100 ml Tris/HCl 8,5

Pgm = Phosphoglucomutase

600 mg Glucose-1-Phosphat
Boehr. Mannh. 105287
20 mg NBT
20 mg NADP
25 mg EDTA
250 mg $MgCl_2$
100 u Glucose-6-phosphatdehydrogenase
(G-6-pdh) in Lösung Boehr. Mannh. 2739
5 mg PMS
100 ml Tris/HCl 7,5

Phi = Phosphohexoseisomerase

20 mg D-Fructose-6-Phosphat-Natriumsalz
Sigma F-3627
20 mg NBT
20 mg NADP
25 mg EDTA
200 mg $MgCl_2$
100 u G-6-pdh
5 mg PMS
100 ml Tris/HCl 7,5

EDTA = Äthylendiamintetraessigsäure-Natriumsalz
Serva 11280
NAD = Nikotinamid-Adenin-dinukleotid Serva 30308
NADP = Nikotinamid-Adenin-dinukleotidphosphat
Boehringer Mannheim 240354
NBT = p-Nitroblautetrazoliumchlorid Serva 30550
PMS = Phenazinmethosulfat Serva 32030

Für die Enzymloci Aph, Lap, αGpdh und Hk konnten unter den gegebenen Bedingungen nur mit männlichen Tieren im

Alter von mindestens 10 Tagen befriedigende Auftrennungsergebnisse erzielt werden.

Als Kontrolle dienten für jede Gelelektrophorese Tiere des Kü-Stammes, der in den untersuchten Enzymsystemen monomorph ist (Lankinen and Pinsker, 1977).

5) Cytologische Untersuchung:

Aus Larven des dritten Larvenstadiums wurden kurz vor der Verpuppung die Speicheldrüsen in Insektenringer herauspräpariert. In diesem Stadium sind bei Drosophila, die Polytänchromosomen in den Speicheldrüsenzellen gut zu erkennen. Die Drüsen wurden vom anhängenden Fettgewebe gereinigt, mit Orcein gefärbt, gequetscht und nach Entwässerung in Euparal eingeschlossen. Die Quetschpräparate wurden dann unter dem Mikroskop bei 400-facher Vergrösserung bezüglich ihres Strukturtypenmusters analysiert.

Das Genom von D. subobscura besteht aus fünf langen akrozentrischen und einem kleinen (= dot) Chromosom. Die fünf langen Chromosomen werden mit den Buchstaben A, E, I, O und U benannt (Mainx et al., 1953), wobei mit A das X-Chromosom bezeichnet wird. Da der Genanteil des dot-Chromosoms im Vergleich zum Gesamtgenom relativ unbedeutend ist, wurde auf eine Untersuchung desselben verzichtet. Die Identifikation der Chromosomen nach ihrem Bandenmuster erfolgte nach der Standardchromosomenkarte für D. subobscura von Kunze-Mühl und Müller (1958). Die Bezeichnung der Inversionsstrukturen folgt der Nomenklatur von Kunze-Mühl und Sperlich (1955).

6) Filmische Darstellung:

Das Paarungsverhalten wurde filmisch festgehalten. Die Filmausrüstung bestand aus einer Bolex EL Kamera. Als Objektiv wurde eine Soligor Television Lens mit der Brennweite f = 50 mm benutzt, die mit den Zwischenringen 10 und 20 kombiniert wurde. Beleuchtet wurde mit 2 zweiarmigen Schwanenhalslampen der Firma Schott (KL 150 B). Als Filmkammer wurde eine Photometerküvette aus Glas verwendet. Mit einem dafür angefertigten Plastikschieber konnte sie auf die Masse 10 x 11 x 5 mm verschlossen werden.

Der Aufbau der Filmgeräte war, wie folgend:

Auf einem Tisch wurde die Kamera an einem Stativ über der Filmkammer befestigt, so dass die Filmkammer das Kamerabild mit der Grösse 13 x 10 mm ausfüllte. Als Hintergrund wurde ein Bogen weissen Papiers auf einem Labortischchen untergelegt. Mit den vier Armen der beiden Schwanenhalsleuchten wurde von vier Seiten her die Kammer möglichst gleichmässig ausgeleuchtet. Die Verwendung von Kaltlichtlampen war notwendig, um eine Hitzeentwicklung in der Filmkammer zu vermeiden, die zum baldigen Tod der Versuchstiere geführt hätte.

Die Blendeneinstellung lag bei Blende 8 und 11, so dass die gesamte Höhe der Filmkammer im Tiefenschärfenbereich lag. Gefilmt wurde mit Normalgeschwindigkeit von 25 B/sec. Als Filmmaterial wurde der hochempfindliche Schwarzweissfilm (4 x 7277 reversal) von Kodak (400 ASA) verwendet, der in 60 m Rollen bezogen werden kann. Zur Entwicklung wurden die belichteten Filme an ein Photolabor eingesandt.

DER BALZTANZ VON D. SUBOBSCURA

III. Vergleich des lin-Stammes mit Wildstämmen

III. 1. Das Paarungsverhalten und seine filmische Dokumentation

a) Das Paarungsverhalten von D. subobscura

Das Werbungs- und Paarungsverhalten des Wildtyps von D. subobscura wurde bereits mehrfach beschrieben (Rendel, 1945; Milani, 1951; Spieth, 1952; Maynard-Smith, 1956 und Brown, 1965). Brown (1965) analysierte die Balz und fand, dass die einzelnen Komponenten in Form einer Reaktionskette ablaufen. Nach Tinbergen (1972) erfordert eine solche Kette von einander auslösenden Einzelreaktionen einen ganzen Satz von spezifischen Schlüsselreizen, wie er es am Beispiel des Paarungsverhaltens des Dreistachligen Stichlings beschrieb.

Die Interaktionen der Partner bei D. subobscura werden nach Brown (1965) hauptsächlich durch optische Stimuli ausgelöst. Chemische und taktile Reize sollen nur an wenigen Stellen des Paarungsspiels eingesetzt werden und scheinen den visuell wahrnehmbaren gegenüber eine untergeordnete Rolle zu spielen.

Nach den Beobachtungen der genannten Autoren und eigenen kann das Paarungsverhalten des Wildtyps schematisch in die drei folgenden, nacheinander ablaufenden Phasen eingeteilt werden:

(1) Orientierung (orientation)

Sieht das Männchen ein sich bewegendes Weibchen, so folgt es ihm. Das Männchen nähert sich dem Weibchen und betastet dessen Abdomen mit den Vorderbeinen (tapping). Danach sucht es eine frontale Stellung zu ihm einzunehmen und streckt dabei die Proboscis aus (proboscis-orientation).

Zusätzlich führt das Männchen oft mit dem mittleren Beinpaar rotierende Bewegungen aus (rowing), wobei es mit dem Kopf zum Weibchen hin orientiert ist.

(2) Balz-Tanz (wing-dance)

Beide Tiere führen frontal zueinander orientiert Seitwärtsschritte in beide Richtungen aus. Maynard-Smith (1956) interpretierte die Seitwärtsschritte des Weibchens als ritualisierte Fluchtreaktion. Dies entspräche einer Lorenz'schen Übersprungbewegung, die ritualisiert zum Balzelement wird.
Während des Tanzes strecken beide Partner die Proboscis aus und berühren sich damit gegenseitig. Dabei spreizt das Männchen beide Flügel leicht ab (wing-posture). Nach einigen Schritten schlägt das Männchen dann beide Flügel schnell hoch (wing-flicking).

(3) Kopulation (copulation)

Das paarungsbereite Weibchen bleibt stehen und das Männchen läuft um es herum. Das Weibchen öffnet die Flügel, so dass das Männchen aufsteigen und kopulieren kann (mounting).

Das Paar verharrt in dieser Stellung einige Sekunden bis zu fast einer Stunde. Die durchschnittliche Kopulationsdauer beträgt bei D. subobscura nach Brown (1965) etwas mehr als 21 Minuten. Währenddessen läuft das Paar auch oft durch die Beobachtungskammer und wird von den anderen Tieren interessiert verfolgt und betastet.
Ausser bei "tapping" und "proboscis-orientation" sind für alle Reaktionen optische Stimuli notwendig. Die genannten beiden Ausnahmen bieten taktile oder chemische Reize.

Spieth (1968) wies nach, dass bei allen beobachteten Drosophilaarten visuell wahrnehmbare Stimuli die Balz initiieren. Milani (1951) konnte sogar beobachten, dass Männchen von D. subobscura ein sich bewegendes Wachsmodell anbalzten. Auch bei lichtunabhängigen Arten, wie zum Beispiel D. melanogaster, kann ein Männchen ohne optische Auslöser ein sich bewegendes Weibchen nicht erfolgreich verfolgen (Cook, 1980). Jedoch läuft das Werbungsrepertoire des Männchens dann starr ab, ohne Kopplung an bestimmte Verhaltensweisen des Weibchen. Ganz anders dagegen ist die beschriebene Handlungskette bei D. subobscura, in der an mehreren Stellen optische Signale wechselseitig von beiden Partnern gegeben werden.

Dieses ganze Wechselspiel von sich nacheinander auslösenden Verhaltensweisen während der Balz fällt nun beim lin-Stamm aus (Preuss, 1973 u. eigene Beobachtungen). Bei der Direktbeobachtung im Weisslicht zeigen die Männchen manchmal einzelne Komponenten des Werbungsrituals, so zum Beispiel in unregelmässiger Folge das Verfolgen des sich bewegenden Weibchens mit "tapping" und ganz selten "wing-posture" oder "rowing". Im Normalfall jedoch versucht das Männchen, ein Weibchen anzuspringen und mit ihm zu kopulieren, ohne dass das Weibchen seine Paarungsbereitschaft durch Stehenbleiben und Flügelspreizen anzeigt.

b) Filmische Dokumentation

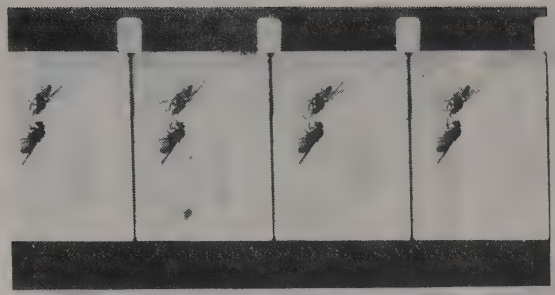
Das Werbungs- und Paarungsverhalten von Tieren des Wildstammes (Tü) und von Tieren des lin-Stammes wurde filmisch dokumentiert. Da D. subobscura-Weibchen meistens nur einmal in ihrem Leben kopulieren, wurden virginelle Weibchen, die mindestens 7 Tage alt waren, und Männchen im Alter von ungefähr 10 Tagen verwendet.

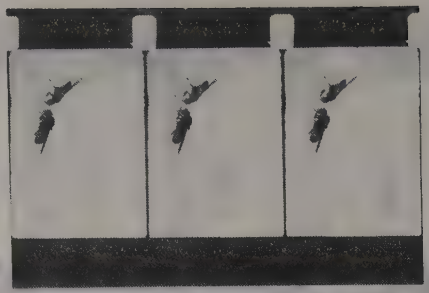
Die Tiere wurden jeweils paarweise, ohne Narkose, mittels eines Glasrohres vorsichtig in die Filmkammer gebracht. Die Filmkammer bot durch ihre Abmessungen den Tieren eine gerade noch ausreichende Bewegungsfreiheit, so dass sie ihr natürliches Verhalten zeigen konnten und vor allem ihnen auch genügend Raum gegeben war, dass sie sich gegenseitig ausweichen konnten. Falls nach Ablauf von einer Stunde kein Ansatz zu Paarungsverhalten beobachtet werden konnte, wurden die Tiere durch ein neues Paar ersetzt. Fingen die Männchen an, zu balzen, wurde der gesamte Ablauf der Werbung bis zur Kopulation auf dem Film aufgezeichnet.

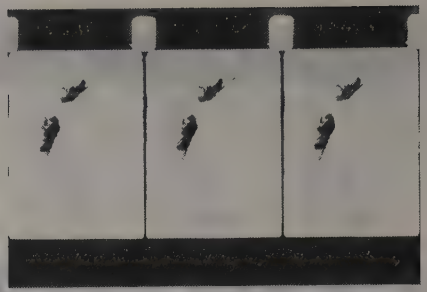
c) Ergebnis der filmischen Dokumentation

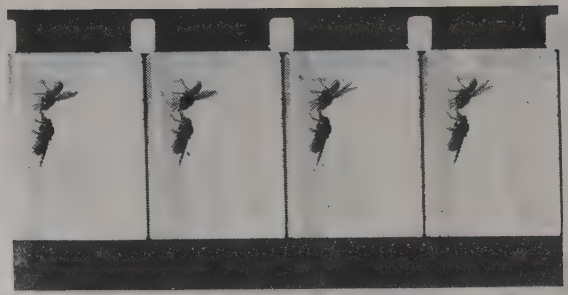
In den Filmaufnahmen wurden sehr deutlich die extremen Unterschiede im Paarungsverhalten zwischen Wild- und lin-Stamm ersichtlich. Typische Verhaltensweisen aus dem Balzritual des Wildstammes sind ausschnittsweise aus dem Film auf den beiden folgenden Seiten wiedergegeben.

Ausserdem konnte hier zum erstenmal eine durch überprüfbare Beobachtungen objektive Darstellung des Balzrituals von Wildtieren von D. subobscura durch den Film gegeben werden. Vor allem konnten hier in der Literatur voreinander abweichende Beobachtungen der Normalbalz nunmehr eindeutig interpretiert werden. So konnte gezeigt werden, dass "rowing" doch ein regelmässiges Balzelement ist, das sehr oft während der Orientierungsphase auftritt, aber auch direkt vor Beginn des Tanzes. Das Männchen ist dabei deutlich zum Weibchen hin orientiert. Brown (1965) interpretierte diese Komponente als "Verlegenheitshandlung", die nicht in das Werbungsritual integriert sei. Weiterhin wurde deutlich, dass "scissoring"- das ist ein sehr kurzes Seitwärtsfächern beider Flügel - wohl nicht zur Balz gehört. Es trat an den verschiedensten Stellen

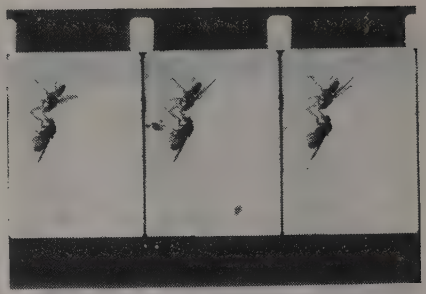


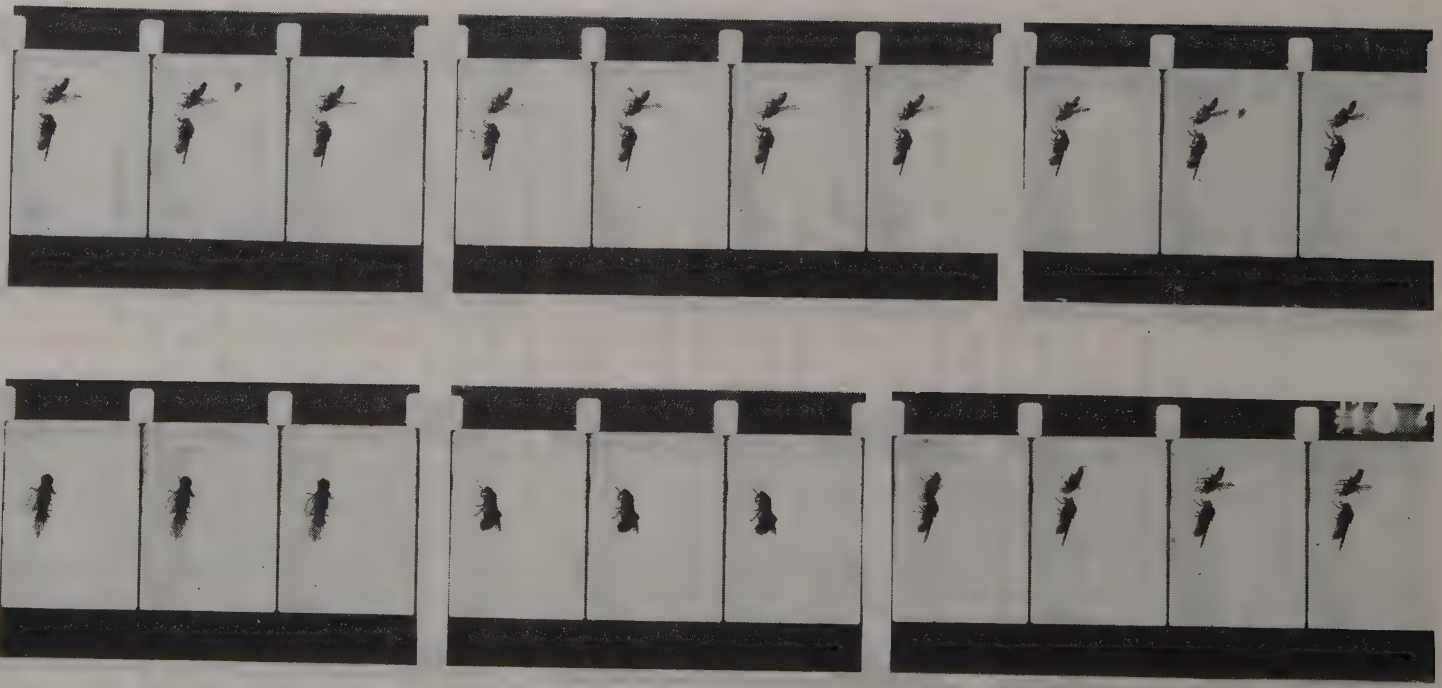






10 239





vor und während des Rituals auf, ohne erkennbaren Zusammenhang mit einer anderen Balzkomponente und auch ohne sichtbare Wirkung auf das Weibchen. Da bei eigenen Freilandbeobachtungen dieses Element auch häufig bei solitären Tieren auf dem Rand der Futtertröge beobachtet wurde, wäre diese Verhaltensweise eher als Ausdruck einer allgemeinen Erregung zu interpretieren. Im Gegensatz zu Maynard-Smith (1956), der "wing-flicking" während des Tanzes beschrieb, beobachtete Brown (1965) diese Komponente nur am Ende des Tanzes, direkt vor der Kopulation. Im Film konnte die Aussage Browns bestätigt werden. Nach Beendigung des Tanzes, wenn beide Partner frontal voreinander stehenbleiben, schlägt das Männchen seine beiden Flügel hoch (wing-flicking), läuft um das Weibchen herum und steigt auf. Eine beschriebene "vibration" mit den Flügeln (Brown, 1965), die bei vielen anderen Drosophila-Arten eine wesentliche Komponente der Balz darstellt, konnte allerdings nicht beobachtet werden. Auch bei Direktbeobachtungen in der Observationskammer konnte diese Verhaltensbewegung nie gesehen werden.

Die Unterschiede zwischen den beiden Stämmen Tü und lin sind in Abb. 1 tabellarisch aufgeführt.

Fasst man die Ergebnisse der filmischen Dokumentation zusammen, so ergeben sich zwei wesentliche Unterscheidungskriterien zwischen Wildstamm und lin-Stamm:

1) Wildtiere zeigen alle Elemente des Werbungsrituals in bestimmter Reihenfolge. Die sehr lange Werbung der Wildmännchen führt durch Stimulation der Weibchen zu einer erfolgreichen Kopulation. Lin-Männchen können die Weibchen nicht hinreichend stimulieren. Die viel kürzere Balz beschränkt sich meist nur auf das Verfolgen der Weibchen und "tapping". "Wing-posture" wird, wenn über-

haupt, dann im falschen Zusammenhang oder zum falschen Zeitpunkt gezeigt und bleibt so ohne Wirkung auf das Weibchen. Deshalb muss das Männchen mehrere, erst erfolglose, Kopulationsversuche unternehmen.

2) Visuell wahrnehmbare Reize sind in der Balz der Wildtiere in allen drei Phasen notwendig. Während die Wildtiere diese optischen Stimuli in bestimmter Reihenfolge selbst aussenden und empfangen, ist dieses Kommunikationssystem bei den lin-Tieren vollständig verloren. Die spektakulärste Änderung im lichtunabhängigen Verhalten des lin-Stammes ist zwar der Ausfall des Seitwärtstanzes, doch sind auch die anderen Komponenten betroffen. Dafür wird "tapping" von lin-Männchen wesentlich häufiger und über längere Zeit angewandt als von Wildmännchen. Dies bedeutet ein Ausweichen auf eine andere Reizqualität bei beiden Partnern.

	Wildtiere	lin-Tiere
Orientierung	sehr lange Phasen bis 2,5 Min.	viel kürzere Phasen 0,8 - 34,8 sec, immer wieder sekundenlang unterbrochen
	alle beschriebenen Elemente häufig	nur tapping häufig, die anderen beiden Elemente nicht beobachtet
Balztanz	Tanz 2,8 - 6,8 sec Weibchen initiiert den Tanz Männchen zeigt wing-posture während des ganzen Tanzes	kein Tanz Weibchen erscheint völlig unbeteiligt Männchen zeigt wing-posture 12 - 13 Bilder = 0,5 sec
Kopula	Männchen zeigt wing-flicking Weibchen zeigt Paarungsbereitschaft an durch Flügelöffnen erfolgreiche Kopulation	Männchen versucht, das Weibchen anzuspringen vor erfolgreicher Kopulation viele erfolglose Kopulationsversuche

Abb. 1: Werbungs- und Paarungsverhalten nach den Filmaufnahmen

III. 2. Fekunditätstest

a) Problemstellung

Es ist zu erwarten, dass sich das Paarungsverhalten eines Genotyps direkt auf dessen Fitness auswirkt. Um ein zahlenmässig erfassbares Mass für die Fitness zu erhalten, kann man verschiedene Komponenten ermitteln, zum Beispiel Viabilität, Fekundität und Paarungserfolg. Die absolute Fitness eines bestimmten Genotyps würde sich erst aus der Summe aller Grössen ableiten.

Als ein mögliches Kriterium für spätere Überlegungen wurde in der vorliegenden Arbeit die Fekundität ausgewählt. Hierunter versteht man die Anzahl der geschlüpften Nachkommen pro Elternpaar.

b) Versuchsanordnung

Die Untersuchung wurde sowohl mit dem lin-Stamm als auch mit der Linie lin^{L20} durchgeführt. Als Vergleichsstämme wurden W-66, ein langjähriger Laborstamm und Fo, ein Stamm abgeleitet aus frischen Wildfängen, untersucht. Aus diesen vier Stämmen wurden jeweils Einpärchenkulturen im Licht angesetzt und unter normalen Kulturbedingungen gehalten. Nach 14 Tagen wurden die noch lebenden Weibchen jeweils in Kulturbecher mit frischem Nährmedium umgesetzt, um eine möglichst vollständige Eiablage zu erreichen. Nach weiteren zwei Wochen wurden dann endgültig die Elterntiere aus den Kulturen entfernt (siehe Tab. 1).

Vom Beginn des Schlüpfens an wurden jeden Tag in jeder Kultur alle Tiere abgesammelt und getrennt nach Geschlechtern ausgezählt, solange, bis 3 Tage lang keine Fliegen mehr ausschlüpften.

Kulturen	Fo	W-66	lin	lin^{L20}
angesetzt (1. B.)	20	30	53	45
angegangen (1. B.)	15	20	31	4
umgesetzt und angegangen (2. B.)	15	20	6	1

Tab. 1: Anzahl angesetzter und angegangener Einpärchenkulturen, die im Licht gehalten wurden.

c) Ergebnisse

In Tab. 1 ist die Anzahl angesetzter und angegangener Kulturen wiedergegeben. Während bei Fo und W-66 75% bzw. 67% der ersten angesetzten Kulturen angingen, waren es bei lin noch 59% und bei lin^{L20} weniger als 9%. Bei den umgesetzten Kulturen blieben die Zahlen für Fo und W-66 gleich, jedoch konnten für lin nur noch 11% und für lin^{L20} sogar nur noch 2% der ursprünglich angesetzten ausgezählt werden.

Tab. 2 zeigt die Ergebnisse der Versuchsreihe. Jeweils 2 Tagesschlüpfraten sind zusammengefasst bis auf die erste Spalte, in der unter "22" alle Raten von Schlüpfbeginn an aufsummiert sind. Die ersten Tiere schlüpften in den meisten Kulturen von Tag 21 nach Versuchsbeginn an, im 2. Kulturbecher oft schon an Tag 18. Dies wurde in der Tabelle jedoch vernachlässigt, weil es für die Interpretation der Ergebnisse nicht relevant schien. Da in der Schlüpfrate insgesamt kein Unterschied zwischen der Zahl der Weibchen und der der Männchen festzustellen war, wurden die beiden Geschlechter zusammengefasst.

Stämme	Fo			W-66			lin			lin^{L20}		
Tage nach Ansatz	1.B.	2.B.	n	1.B.	2.B.	n	1.B.	2.B.	n	1.B.	2.B.	n
22	42	414	456	206	273	479	201	15	216	16	7	23
24	82	176	258	421	209	630	213	25	238	23	-	23
26	136	318	454	681	377	1058	353	29	582	79	2	81
28	147	347	494	681	377	1058	334	20	334	56	-	56
30	734	705	1439	448	268	716	199	11	210	28	-	28
32	486	387	873	389	260	649	112	2	114	8	-	8
34	417	137	554	378	362	740	66	-	66	-	-	-
36	321	41	362	492	137	629	45	-	45	-	-	-
38	133	24	157	228	55	283	23	-	23	-	-	-
40	8	4	12	104	31	135	6	-	6	-	-	-
42	-	-	-	51	7	58	2	-	2	-	-	-
44	-	-	-	49	2	51	-	-	-	-	-	-
46	-	-	-	11	-	11	-	-	-	-	-	-
48	-	-	-	6	-	6	-	-	-	-	-	-
Σ	2506	2553	5059	4145	2358	6503	1554	102	1656	210	9	219
Nachkommen pro Paar	167,1	170,2	337,3	207,3	117,9	325,2	50,0	3,3	53,4	52,5	2,3	54,8

Tab. 2: Schlüpfraten und Anzahl geschlüpfter Tiere aus den Einpärchenkulturen, summiert über alle Kulturen. Die Anzahl untersuchter Kulturen ist in Tab. 1 zusammengefasst.

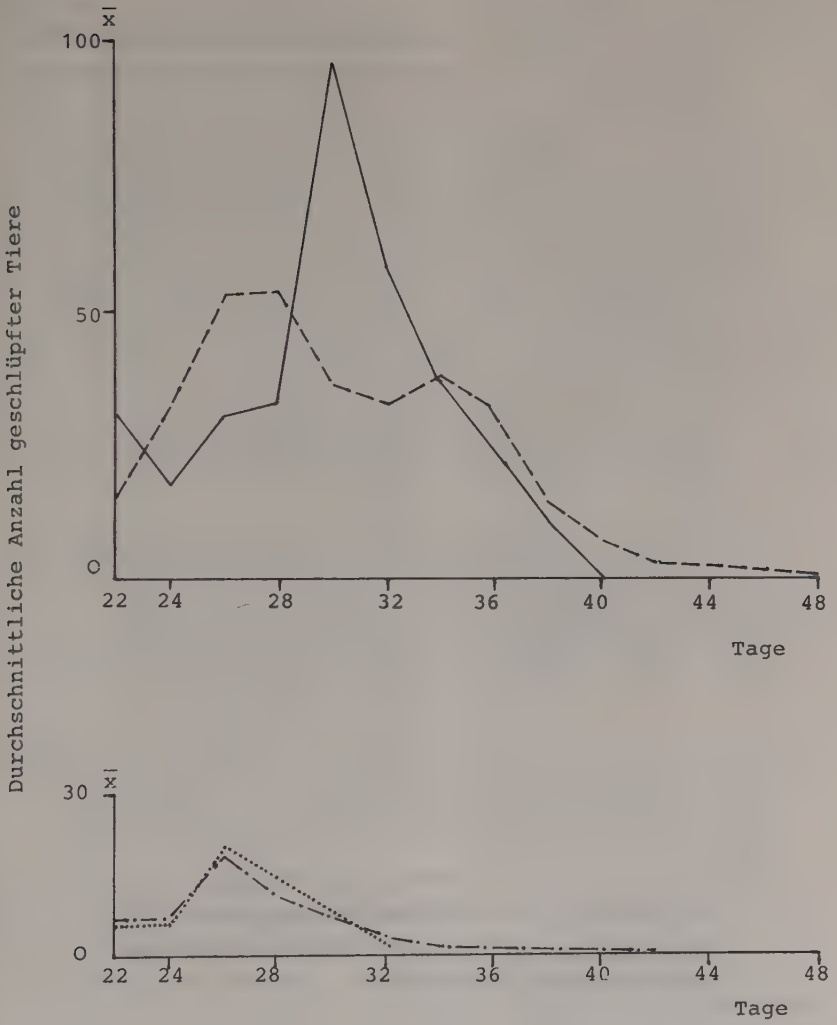


Abb. 2: Tagesschlüpfraten pro Elternpaar
$\bar{x}$ = Mittelwerte aller Kulturen
——— = Fo, — — — = W-66
—·—·— = lin, ····· = lin^{L20}

Wie in Abb. 2 deutlich zu erkennen, sind die Schlüpfraten für die vier Stämme jeweils annähernd normalverteilt. Die Maxima erreichen allerdings sehr verschiedene Höhen. Der höchste Wert wurde bei Fo gefunden. Der etwas niedrigere Maximalwert von W-66 wird durch eine weiter hinausgezogene Dauer des Schlüpfens ausgeglichen. Der Abfall der W-66-Kurve ist demnach nicht so steil wie der von Fo. Signifikant niedriger sind die Maximalwerte bei lin und lin^{L20}. Die mittlere Schlüpfrate für die 4 untersuchten Stämme beträgt für Fo 29,9 Tage, für W-66 29,9 Tage, für lin 27,3 Tage und für lin^{L20} 26,6 Tage nach dem Ansatz der Kulturen. Der statistische Vergleich ergibt, dass die mittlere Schlüpfrate des lin-Stammes signifikant niedriger ist als die der beiden Wildstämme ($t = 34,5$; $p < 0,001$).

Die vier untersuchten Laborstämme ergeben somit zwei deutlich voneinander unterschiedene Gruppen:

1) Die Wildstämme Fo und W-66 unterscheiden sich nicht signifikant in der Zahl angegangener Kulturen und ihrer Anzahl Nachkommen pro Paar.

2) Geringere Anzahl angegangener Kulturen und Nachkommenzahl pro Elternpaar erzielten die beiden Laborstämme lin und lin^{L20}.

Der Unterschied zwischen den Gruppen 1 und 2 in der Zahl angegangener Kulturen und der Nachkommenzahl pro Elternpaar ist so klar ersichtlich, dass sich hier ein statistischer Test erübrigt.

III. 3. Cytologische Analyse

a) Problemstellung

D. subobscura besitzt einen ausgeprägten Inversionspolymorphismus. Für alle fünf akrozentrischen Chromosomen existieren in der Natur mehrere Strukturtypen, deren relative Häufigkeiten in den verschiedenen natürlichen Populationen jedoch sehr unterschiedlich sein können. Die geographische Häufigkeitsverteilung der Strukturtypen ist in den letzten Jahren intensiv untersucht worden. Eine zusammenfassende Darstellung (Krimbas and Loukas, 1980) zeigt, dass viele Strukturtypen an allen Standorten vorkommen, andere jedoch für einzelne Areale endemisch sind. Zusätzlich wurden für alle Chromosomen Häufigkeitsclines in Nord-Süd-Richtung beobachtet (Krimbas, 1965; Prevosti, 1966 und Sperlich, Pinsker and Pfriem, 1980). Innerhalb von Populationen bleiben die Strukturtypenhäufigkeiten über die Jahre jedoch relativ konstant (Sperlich und Feuerbach, 1966).

Nur durch starke Inzucht können in einem Stamm bestimmte chromosomale Strukturtypen homozygot fixiert werden. Der lin-Stamm, zum Beispiel, der aus wenigen Individuen und unter starkem Selektionsdruck aus dem Stamm W-66 selektioniert worden war, müsste sich hinsichtlich seines Strukturtypenmusters von seinem Ausgangsstamm unterscheiden. Ein Vergleich des chromosomalen Musters zwischen Ausgangsstamm und Selektionsstamm könnte andererseits auch einen Rückschluss auf die Effekte der im Selektionsprozess durch die Strukturtypen eingeschlossenen Genkomplexe ermöglichen.

Chromosom	Strukturtyp	lin	Wien[1)]	Tübingen[2)]
A	A_{St}	100,0	57,2	54,0
	A_1	0,0	35,6	38,9
	A_2	0,0	7,2	7,1
I	I_{St}	100,0	56,7	59,3
	I_1	0,0	43,3	40,7
U	U_{St}	100,0	69,7	67,9
	U_1	0,0	2,2	0,9
	U_{1+2}	0,0	11,8	24,3
	U_{1+2+6}	0,0	14,4	1,4
	U_{1+2+7}	0,0	0,8	0,0
	U_{1+2+8}	0,0	1,1	5,5
E	E_{St}	100,0	76,9	94,9
	E_{1+2}	0,0	3,1	0,9
	E_{1+2+9}	0,0	6,4	3,2
	$E_{1+2+9+12}$	0,0	0,0	0,5
	E_8	0,0	13,6	0,5
O	O_{St}	100,0	74,4	82,8
	O_{3+4}	0,0	10,6	7,1
	O_{3+4+1}	0,0	2,2	1,3
	O_{3+4+2}	0,0	1,4	0,0
	O_{3+4+7}	0,0	0,3	0,0
	O_{3+4+8}	0,0	1,4	6,6
	O_{3+4+12}	0,0	0,0	0,4
	O_{3+4+22}	0,0	0,5	0,0
	O_5	0,0	1,1	0,0
	O_6	0,0	8,1	1,8
	n	20	360	113

Tab. 3: Strukturtypenhäufigkeiten in Prozenten
n = Anzahl getesteter Chromosomen
1) nach Kunze-Mühl, Müller u. Sperlich, 1958
2) nach Pinsker, Lankinen a. Sperlich, 1978

b) Versuchsanordnung

Für die cytologische Analyse wurden Männchen des lin-Stammes mit virginellen Weibchen des Kü-Stammes eingekreuzt. Der Stamm "Kü" ist für alle Chromosomen strukturell homozygot (Zollinger, 1950) und wurde als cytologischer Standardstamm bestimmt. Aus der F_1 einer solchen Kreuzung kann auf die cytologische Struktur der Väter rückgeschlossen werden. Die Identifikation der Inversionen erfolgte nach Kunze-Mühl und Sperlich (1955).

Die Kreuzung Kü x lin wurde zehnmal mit je 3 Paaren im Licht angesetzt. Aus der Nachkommenschaft jeder Kultur wurden je zwei Larven präpariert und die Riesenchromosomen cytologisch analysiert. Zum Vergleich des lin-Stammes mit anderen Wildstämmen von D. subobscura wurden die Strukturtypenfrequenzen der zwei natürlichen Standorte Wien und Tübingen benutzt (Kunze-Mühl, Müller und Sperlich, 1958 und Pinsker, Lankinen and Sperlich, 1978).

c) Ergebnisse

In Tab. 3 sind die Untersuchungsergebnisse der Chromosomenanalyse des lin-Stammes den Daten aus Wien und Tübingen gegenübergestellt. Auf die Unterschiede zwischen den beiden Vergleichspopulationen aus Wien und Tübingen soll hier nicht näher eingegangen werden. Gemeinsam ist beiden Populationen ein relativ hoher Inversionspolymorphismus für alle 5 Chromosomen, doch ist in allen Chromosomen jeweils die Standardstruktur am häufigsten. Im lin-Stamm jedoch ist vollständige Homozygotie in den Standardstrukturen eingetreten. Ob als Folge der Inzucht oder der Selektion lässt sich allerdings nicht entscheiden.

III. 4. Allozymvariabilität

a) Problemstellung

Bei der Elektrophorese von Polypeptiden beruht die Trennungsmethode auf unterschiedlichen Nebenladungen, die die verschiedenen Moleküle haben können. Diese bestimmen dann die Wanderungsgeschwindigkeit eines Proteins im elektrischen Feld. Von einem spezifischen Strukturgen ausgehend kann man annehmen, dass sich die verschiedenen Allele dieses Gens durch einzelne Basensubstitutionen in der DNS voneinander unterscheiden. Im entsprechenden codierten Protein führt dies zu Aminosäuresubstitutionen, die wieder eine Ladungsänderung zur Folge haben können. Da aber nicht jede Aminosäuresubstitution zu einer Ladungsänderung führt, können wahrscheinlich nur etwa 40% der Allozympolymorphismen elektrophoretisch aufgedeckt werden.

Der Allozympolymorphismus von D. subobscura wurde von verschiedenen Autoren intensiv untersucht (Saura et al., 1973; Pinsker and Sperlich, 1979; Marinković, Ayala and Andjelković 1978 und Sperlich, Pinsker and Mitrofanov, 1981). Dabei wurden zwischen Populationen unterschiedlichster geographischer Herkunft nur geringe Unterschiede im Grad des Polymorphismus an den getesteten Enzymloci gefunden. Der Polymorphismus selbst ist offensichtlich stabil. Er wird im allgemeinen als selektiv neutral angesehen. Bei der Konstruktion eines Laborstammes können wieder durch Selektion und genetische Drift bestimmte Allele fixiert werden. Da der lin-Stamm sicher nur aus den Nachkommen weniger Tiere gezüchtet wurde, müsste sich dann die Zusammensetzung seines Enzymmusters von dem von Wildpopulationen von D. subobscura unterscheiden.

b) Versuchsanordnung

In der hier durchgeführten Allozymuntersuchung wurde der lin-Stamm in möglichst vielen Enzymsystemen getestet. Zum Vergleich des lin-Stammes mit Wildstämmen wurden die Allelfrequenzen der zwei natürlichen Standorte Tübingen und Formia (Pinsker and Sperlich, 1979) benutzt. Hier wurden in der tabellarischen Auflistung der Daten die seltenen Allele nicht berücksichtigt, so dass die Prozentzahlen für die Allele der beiden Stämme Tü und Fo sich nicht in allen Enzymsystemen auf 100% ergänzen. An den interessant erscheinenden Loci wurden auch der Ausgangsstamm W-66, aus dem der lin-Stamm selektioniert worden war, und die Linie des lin-Stammes im Licht lin^{L20} untersucht. Als Kontrolle wurden Tiere des Kü-Stammes mitgetestet. Dieser Stamm ist an den untersuchten Enzymloci jeweils monomorph für ein bestimmtes Allel (Lankinen and Pinsker, 1977).

c) Ergebnisse

Die Allozymfrequenzen von 11 untersuchten Loci des lin-Stammes und der Vergleichsstämme lin^{L20}, W-66, Tü und Fo sind in Tab. 4 aufgeführt. Die beiden Vergleichs-Stämme Tü und Fo unterscheiden sich nur in den Allelfrequenzen des Lap-4-Systems. Trotz ihrer Herkunft aus geographisch weit entfernten Arealen zeigen sie an allen anderen Enzymloci eine grosse Übereinstimmung. Demgegenüber finden sich bei W-66 abweichende Häufigkeitsverteilungen für die Allele der Loci Hk-1, Aph-3, Lap-4 und Me; das heisst in immerhin 4 von den 6 hier zu vergleichenden Enzymsystemen.

Im lin-Stamm ist an 8 der 11 untersuchten Enzymloci jeweils ein Allel fixiert. Ausser Hk^{99} und Aph^{107} sind die fixierten Allele auch in den anderen Stämmen die häufig-

Chromosom	Enzymlocus	Allel	lin	W-66	lin^{L20}	Tü[1)]	Fo[1)]	Kü
E	Hk-1	n	38	100	-	481	286	
		99	100,0	73,0		49,1	49,0	
		101	0,0	27,0		49,1	42,0	+
E	Phi	n	100	-	-	200	378	
		100	100,0			97,5	97,6	+
I	Aph-3	n	134	100	100	358	276	
		100	0,0	85,0	0,0	42,3	41,7	+
		107	100,0	15,0	100,0	55,3	53,1	
I	Pgm	n	126	100	-	784	736	
		101	100,0	98,0		93,0	93,5	+
		105	0,0	2,0		3,6	3,3	
O	Ao	n	100	-	-	150	300	
		97	100,0			96,0	97,3	+
O	Lap-4	n	220	98	100	422	336	
		104	80,9	38,8	60,0	52,4	80,7	
		106	0,0	51,1	0,0	37,9	14,3	+
		107	19,1	7,1	40,0	5,2	0,9	
O	Me	n	142	100	100	1824	736	
		105	32,4	13,0	12,0	5,3	4,9	
		106	67,6	87,0	88,0	93,5	93,7	+
O	Odh	n	134	-	-	334	286	
		100	100,0			95,8	95,6	+
U	Adh	n	174	100	100	541	340	
		70	67,8	0,0	75,0	3,1	3,8	
		80	32,2	100,0	25,0	96,9	96,2	+
U	αGpdh	n	100	-	-	183	184	
		100	100,0			96,7	99,8	+
U	Mdh	n	100	-	100	2066	736	
		96	100,0		100,0	97,3	95,9	+

Tab. 4: Allelfrequenzen in Prozenten

1) nach Pinsker und Sperlich (1979); Allele, die weder in lin noch in W-66 vorkommen, wurden nicht berücksichtigt.

n = Anzahl der getesteten Chromosomen

- = nicht untersucht

+ = monomorph für dieses Allel

sten. Hk^{99} hat auch in W-66 eine höhere Frequenz als in Tü und Fo, ist aber im lin-Stamm statistisch signifikant häufiger (χ^2 = 12,76 , df = 1, $p < 0,001$) als in W-66. Aph^{107} ist in Tü und Fo mit einer Frequenz von > 50% nachzuweisen, in W-66 ist es jedoch relativ selten. Von besonderem Interesse ist ein Vergleich der drei polymorphen Loci des lin-Stammes. Am Adh-Locus liegt im lin-Stamm ein Polymorphismus für die beiden Allele Adh^{70} und Adh^{80} vor, während in den drei Vergleichsstämmen Tü, Fo und W-66 Adh^{80} mit über 96% Häufigkeit vorkommt. Dieser Polymorphismus bleibt auch in der lin^{L20}-Linie bestehen. Eine leichte Verschiebung zu einer Frequenzerhöhung von Adh^{70} in lin^{L20} gegenüber dem lin-Stamm ist statistisch nicht signifikant (χ^2 = 1,57, df = 1).

Ähnlich verhalten sich die gefundenen Häufigkeiten am Me-Locus. Das in Tü, Fo und W-66 seltene Allel Me^{105} ist im lin-Stamm wesentlich häufiger (χ^2 = 11,97, df = 1, $p < 0,001$). Im lin^{L20}-Stamm wurde wieder eine Verschiebung der Frequenz dieses Alleles zurück zum Ausgangswert von W-66 gefunden.

Komplexer gestaltet sich der Vergleich für das Lap-System. Hier haben die 3 Allele Lap^{104}, Lap^{106} und Lap^{107} in allen drei Vergleichsstämmen Tü, Fo und W-66 unterschiedliche Frequenzen. Das Allel Lap^{106}, welches in W-66 eine Häufigkeit von 51% hat, ist im lin-Stamm und in der lin^{L20}-Linie nicht nachzuweisen. Statistisch signifikant (χ^2 = 7,43, df = 1, $p < 0,01$) häufiger als in W-66 ist im lin-Stamm das Allel Lap^{107}, welches in W-66, Fo und Tü zu den seltenen Allelen zählt. In der lin^{L20}-Linie ist die Häufigkeit dieses Alleles doppelt so hoch wie im lin-Stamm.

Zusammenfassend ergibt sich, dass im lin-Stamm an 7 der 11 untersuchten Enzymloci (Phi, Pgm, Ao, Odh, αGpdh, Hk und Mdh) jeweils die häufigst vorkommenden Allele fixiert sind. Die anderen 4 Loci verteilen sich auf die 3 Autosomen I, O und U, wobei 2 Loci auf dem O-Chromosom lokalisiert sind, welches auch das längste innerhalb des Chromosomensatzes von D. subobscura ist. Von diesen 4 Loci ist an einem (Aph-3 auf dem I-Chromosom) ein Allel fixiert, das in den Vergleichspopulationen zu den seltenen gehört. Für die Loci Adh, Me und Lap-4 (Chromosom U und O) wurde im lin-Stamm ein Polymorphismus gefunden, wobei jeweils ein in den Wildpopulationen nicht so häufiges Allel wesentlich häufiger nachzuweisen war. Interessant erscheint, dass bei der lin^{L20}-Linie an den letztgenannten drei polymorphen Loci nach mehreren Generationen im Licht Verschiebungen der Allelfrequenzen gefunden werden konnten. Besonders die beiden Loci Me und Lap-4 sollen erwähnt werden. Obwohl beide nahe beieinander auf dem O-Chromosom lokalisiert sind, ergaben sich im Vergleich zum lin-Stamm für beide Loci divergente Verschiebungen. Am Me-Locus verschob sich die Frequenz in Richtung der Wildpopulationen. Dagegen nahm am Lap-4-Locus ein in den Wildpopulationen sehr seltenes Allel noch mehr zu.

III. 5. Diskussion

Wird das Werbungs- und Paarungsverhalten von Wildstämmen von D. subobscura mit dem anderer Arten der obscura-Gruppe (Brown, 1965) verglichen, so fällt besonders die Bedeutung von visuellen Stimuli für diese Art auf. Im Gegensatz zu verwandten Arten, wie zum Beispiel D. obscura oder D. pseudoobscura, geben ausserdem die Männchen von D. subobscura während des Balzrituals keine akustischen Signale. Stattdessen findet sich bei D. subobscura ein kompliziertes Balzverhalten mit einer komplexen Reaktionskette, die nach einer Orientierungsphase zum Balztanz führt, wobei an mehreren Stellen des Rituals visuelle Stimuli eingesetzt werden. Durch künstliche, gerichtete Selektion gelang es nun, einen Laborstamm (= lin-Stamm) herzustellen (Springer, 1973), der unter Lichtausschluss gehalten werden kann. Das Paarungsverhalten dieses Stammes muss also in entscheidender Weise genetisch verändert worden sein. Theoretisch bestünde die Möglichkeit, dass eine Abänderung des Verhaltensmusters in Richtung der Verhaltensweisen von anderen obscura-Arten stattgefunden hat, das heisst es könnten akustische Signale entwickelt worden sein. Da bei den lin-Männchen aber keine akustischen Signale festgestellt werden konnten (Barner, unpubl. und eigene Beobachtungen), kann diese Möglichkeit ausgeschlossen werden. Daraus, dass die Selektion des lin-Stammes aber möglich war, kann allerdings geschlossen werden, dass der Laborstamm W-66, aus dem der lin-Stamm selektioniert worden war, oder Wildstämme von D. subobscura allgemein polymorph sein müssen für die genetischen Faktoren, die die Eigenschaft Lichtabhängigkeit, bzw. Lichtunabhängigkeit determinieren.

Nach den Ergebnissen aus den Filmaufnahmen manifestieren sich die Unterschiede im Verhalten des lin-Stammes im

Vergleich zum Wildstamm praktisch in dem Ausfall des Balztanzes mit der ganzen zugehörigen Reaktionskette (siehe Abb. 1). Lediglich einzelne Komponenten des Werbungsrituals, hauptsächlich aus der Orientierungsphase, konnten beobachtet werden. Trotzdem finden im Licht und im Dunkeln erfolgreiche Paarungen statt.

Der Modifikation des Paarungsverhaltens des lin-Stammes könnten nach Pinsker und Doschek (1979) zwei Ursachen zu Grunde liegen:

a) Eine Verlagerung auf andere Reizqualitäten (= taktile, chemische) als Ausgleich für den Verlust der visuellen.
b) Eine Reizschwellenerniedrigung für die Paarungsbereitschaft.

Für a) spricht die im Film beobachtete Reduktion des Werbungsverhalten auf das Element "tapping". Auch die Dichteabhängigkeit des Paarungserfolges (Pinsker and Doschek, 1980) ist ein Hinweis für die grössere Bedeutung von taktilen Reizqualitäten. Für b) sprechen einerseits die vielen Kopulationsversuche des lin-Männchen während des Beobachtungszeitraumes und andererseits die Paarungsbereitschaft der lin-Weibchen ohne vorhergehende "artgerechte" Stimulation. Bestätigt wird letzteres durch den beobachteten hohen Paarungserfolg von yellow-Männchen, bzw. D. pseudoobscura-Männchen mit lin-Weibchen (Pinsker and Doschek, 1980).

Bei der Frage nach der genetischen Grundlage der Verhaltensänderung des lin-Stammes kann von der Annahme ausgegangen werden, dass das sexuelle Verhalten der Wildtiere von D. subobscura durch ein Polygensystem bedingt ist. Die Konzeption eines solchen Polygensystems beinhaltet zunächst die genetische Determination distinkter Einzel-

komponenten, wie zum Beispiel tapping, wing-posture und wing-flicking (siehe Abb. 1). Diese Einzelkomponenten des sexuellen Verhaltens können theoretisch polygen oder monogen bedingt sein.

Zusätzlich könnten Regulationsgene beteiligt sein, die die richtige Abfolge von Verhaltenselementen koordinieren und so ganze Reaktionsketten ein- bzw. ausschalten. Diese Art der Regulation ganzer komplexer Muster durch übergeordnete Gene könnte ähnliche dem Erbmodus bei der Evolution der Batesschen Mimikry bei Papilio dardanus verstanden werden (Clarke and Sheppard, 1960). Das Polygensystem, das dort die verschiedenen Allelomorphe der Papilio-Weibchen durch disruptive Selektion (Mather, 1955) entstehen liess, wird als Supergen durch ein einziges Switchgen kontrolliert. Ein ähnliches genetisches System mit einem Hauptgen und weiteren modifizierenden Genen ist bei höheren Pflanzen gefunden worden. So konnte Prazmo (1965) beispielsweise zeigen, dass bei der Akelei (Aquilegia) das Vorkommen oder Fehlen eines Sporns an den Blütenblättern durch ein Schaltgen gesteuert wird. Die Länge und der Biegungsgrad der Sporne, die Grösse der Blütenblätter und die verschiedenen auftretenden Farbtöne werden dann durch viele modifizierende Gene bestimmt. Schliesslich ist noch zu fordern, dass die Kombination der Geschlechtschromosomen einen Genotyp in Richtung auf weiblichen oder männlichen Phänotyp determinieren und somit die unterschiedliche Verhaltensweise von Männchen und Weibchen bestimmen. Drosophila hat wie der Mensch einen X-Y-Geschlechtsbestimmungsmechanismus.

Theoretisch kann in einem solchen Polygensystem die Eigenschaft des lin-Stammes, im Dunkeln paaren zu können, auf drei möglichen genetischen Ursachen beruhen. Es könnte sich um einen polygen bedingten Faktor, um einen monogen

bedingten Faktor oder um ein Regulationsgen handeln. Pinsker und Doschek (1980) führten dazu als erste Kreuzungsexperimente mit dem lin-Stamm durch. Reziproke Kreuzungen (wild ♀♀ x lin ♂♂ und lin ♀♀ x wild ♂♂) ergaben dabei, dass das X-Chromosom keinen Einfluss auf die Eigenschaft Lichtunabhängigkeit des lin-Stammes hat. Die männlichen Nachkommen aus diesen Kreuzungen trugen jeweils das X-Chromosom ihrer Mütter, die einmal aus dem Wildstamm und das anderemal aus dem lin-Stamm stammten. Im Paarungserfolg dieser Männchen aus den beiden verschiedenen F_1-Nachkommenschaften im Dunkeln konnte kein signifikanter Unterschied beobachtet werden. Die weiteren Kreuzungen, bei denen die vier Autosomen jeweils einzeln getestet wurden, ergaben keinen Hinweis darauf, dass nur eines der Autosomen an der Ausprägung des Merkmals Lichtunabhängigkeit des Paarungsverhaltens beteiligt ist. Aus ihren Ergebnissen zogen die beiden genannten Autoren daher den Schluss, dass die Lichtunabhängigkeit des Paarungsverhaltens bei D. subobscura durch ein Polygensystem determiniert ist. Dabei scheinen alle vier Autosomen zu diesem Polygensystem beizutragen.
In der vorliegenden Untersuchung wurde nun eine indirekte Methode angewandt, um den Einfluss der vier Autosomen zu quantifizieren. Hierzu wurde zunächst im ersten Teil der Untersuchung der lin-Stamm cytologisch und enzymelektrophoretisch untersucht. Zum Vergleich der Ergebnisse wurden der Laborstamm W-66, aus dem der lin-Stamm selektioniert worden war und eine lin-Linie, die 20 Generationen im Licht gehalten worden war (lin^{L20}), untersucht, sowie publizierte Daten natürlicher Standorte von D. subobscura benutzt.

Der lin-Stamm erwies sich bei der cytologischen Analyse in allen fünf Chromosomen jeweils als monomorph

für den Strukturtyp "Standard" (siehe Tab. 3). Im Vergleich dazu zeigen die natürlichen Populationen von D. subobscura aus Wien (Kunze-Mühl, Müller und Sperlich, 1958) und Tübingen (Pinsker, Lankinen and Sperlich, 1978) einen hohen Inversionspolymorphismus in allen fünf Chromosomen mit bis zu neun verschiedenen Strukturtypen (O-Chromosom des Standortes Wien). Gemeinsam ist beiden natürlichen Populationen, dass für alle Chromosomen der Strukturtyp "Standard", der im lin-Stamm ausschliesslich gefunden wurde, jeweils der häufigste ist. Für die elektrophoretische Untersuchung des lin-Stammes wurden elf Enzymloci ausgewählt, die auf die vier Autosomen verteilt waren und die in natürlichen Populationen von D. subobscura polymorph sind (Pinsker and Sperlich, 1979). Die Untersuchung des lin-Stammes erbrachte folgende Ergebnisse (siehe Tab. 4):

Chromosom E: Hk-1, Phi: Beide Loci fixiert für das häufigste Allel

Chromosom I: Aph-3, Pgm: Beide Loci fixiert, Pgm für das häufige, Aph-3 für das seltenere Allel

Chromosom O: Ao, Lap-4, Me, Odh: Zwei Loci fixiert für das häufige Allel, zwei Loci (Me und Lap-4) polymorph

Chromosom U: Adh, αGpdh, Mdh: Zwei Loci (αGpdh und Mdh) fixiert für das häufige Allel, ein Locus (Adh) polymorph.

Der lin-Stamm ist somit an acht der elf untersuchten Loci monomorph, in sieben Fällen jeweils für das in natürlichen Populationen am häufigsten vorkommende Allel und in einem Fall für ein seltenes Allel (Aph-3-Locus auf dem I-Chromosom). Die drei noch polymorphen Loci (Lap-4, Me und Adh auf Chromosom O bzw. U) tragen in

zwei Fällen ein selteneres Allel aus dem Ausgangsstamm W-66 überhäufig (Me und Lap-4 auf dem O-Chromosom).

Um die Ergebnisse der cytologischen und enzymelektrophoretischen Untersuchungen des lin-Stammes interpretieren zu können, muss noch einmal auf die Selektion des Stammes aus dem Laborstamm W-66 eingegangen werden. Die künstliche Selektion des Stammes auf Paarungsfähigkeit im Dunkeln erfolgte über mehrere Generationen durch langsame Adaptation an graduell schwächere Lichtintensitäten. Da wahrscheinlich jeweils nur wenige Tiere pro Generation die Fähigkeit zeigten, sich im Dunkeln paaren zu können, kann davon ausgegangen werden, dass der lin-Stamm gleichzeitig starker Inzucht im genetischen Hintergrund ausgesetzt war.
Sowohl Inzucht als auch Selektion führen zu Veränderungen der Genpoolzusammensetzung einer Population. Hierbei kann Inzucht zur Fixierung eines Allels an einem Locus führen, während gerichtete Selektion sowohl zu Homozygotie, als auch zu einem neuen stabilen Selektionsplateau führen kann. Ein solches Selektionsplateau kann durch Homöostasis aufrechterhalten werden (siehe Sperlich, 1973).
Auf Grund der Annahme, dass Enzymallele neutral sind (siehe Nei, 1975), das heisst keiner direkt angreifenden Selektion unterworfen sind, ergeben sich für die Interpretation der Ergebnisse des lin-Stammes folgende Möglichkeiten:

a) Die Fixierung eines Enzymallels erfolgte jeweils zufällig.
b) Die Enzymallele können als Indikatoren für eine Selektion an eng gekoppelten Genloci auf Grund des hitch-hiking-Phänomens (Kojima and Schaffer, 1967) betrachtet werden.

Der beobachtete Polymorphismus an drei von elf Enzymloci (Chromosom O bzw. U) hat sich, wenn nicht durch Neumutationen bedingt, über acht Jahre im lin-Stamm gehalten, obwohl dieser eine stark reduzierte Fekundität zeigt und zumindest während 20 Generationen vor Beginn der Untersuchung mehrmals als kleine Population gehalten wurde. Daraus kann auf balancierende Selektion an Genorten, die in der unmittelbaren Nähe dieser untersuchten Enzymloci liegen, geschlossen werden. Andererseits kann hier auch ein Effekt wirksam werden, der an monomorphen Experimentalpopulationen von Drosophila beobachtet wurde (Sperlich and Karlik, 1970; Sved and Ayala, 1970; Sperlich, Karlik and Pfriem, 1982). Solche Populationen zeigen im Gegensatz zu polymorphen Populationen die Tendenz, jeden greifbaren Polymorphismur festzuhalten. So werden auch Chromosomen, die einen Letalfaktor tragen, in monomorphe Populationen eingebaut und erreichen dort grössere Häufigkeiten als in polymorphen Populationen.
Insgesamt kann die für den lin-Stamm gefundene Fixierung von Enzymallelen und chromosomalen Strukturtypen auf allen vier Autosomen durch Inzucht oder Selektion erklärt werden. Auf Grund der Untersuchungsmethode, die hier im ersten Teil der Arbeit angewandt wurde, kann allerdings zwischen beiden Mechanismen als Ursache für die gefundenen Ergebnisse nicht unterschieden werden.

Schliesslich bleibt noch die Beobachtung, dass der lin-Stamm im Vergleich mit den Laborstämmen W-66 und Fo im Licht eine stark reduzierte Fekundität zeigt (siehe Tab. 2). Dieser Befund kann auf zwei Ursachen zurückgeführt werden. Einerseits ist bei künstlich homozygot gekreuzten Tieren im Vergleich mit Zufallsheterozygoten oft eine deutliche Reduktion der Vitalität zu beobachten (siehe z.B. Dobzhansky and Spassky, 1963). Als Erklärung wird einerseits der Verlust an Heterosis und

andererseits das Vorhandensein von rezessiven Detrimentalfaktoren angenommen, die im homozygoten Zustand zur Wirkung kommen. Beide Effekte könnten als Erklärung für die im Vergleich mit Wildstämmen beobachtete deutliche Reduktion der Fitness des lin-Stammes herangezogen werden. Andererseits wäre es aber auch möglich, dass durch die erfolgreiche gerichtete Selektion auf die Eigenschaft Lichtunabhängigkeit, die wahrscheinlich nur einen Teil des Polygensystems, welches das Paarungsverhalten determiniert, umfasst, gleichzeitig genetische Veränderungen in anderen Komponenten des Polygensystems eintraten.
Ein indirekter Hinweis darauf, dass sich durch die gerichtete Selektion des lin-Stammes auf Lichtunabhängigkeit auch andere Komponenten des Polygensystems änderten, ergibt sich aus den Ergebnissen der Untersuchung einer lin-Linie, die über 20 Generationen im Licht gehalten worden war. Pinsker und Doschek (1980) konnten zeigen, dass der lin-Stamm, wenn 20 Generationen im Licht gehalten, die Fähigkeit verliert, sich im Dunkeln fortpflanzen zu können. Aus diesem Ergebnis wurde von den Autoren auf einen Erfolg der natürlichen Rückselektion geschlossen. Einer tatsächlich erfolgten Rückkehr des lin-Stammes zum Wildtyp steht jedoch das Ergebnis des Fekunditätstests aus dieser Untersuchung entgegen. Dieser Test wurde im Licht durchgeführt und zeigt, dass nach 20 Generationen im Licht noch einmal ein starker Fitnessverlust eingetreten ist, der sich in der Fertilität auswirkt. Die Anzahl angegangener Kulturen beträgt bei der lin^{L20}-Linie dann nur noch 9% im Vergleich zu lin- und Wildstämmen mit etwa 67% (siehe Tab. 1). Dabei ist die Anzahl der Nachkommen pro Elternpaar für den lin- und lin^{L20}-Stamm gleich und signifikant niedriger als für die beiden Stämme W-66 und Fo. Aus dem Vergleich der Ergebnisse

kann geschlossen werden, dass eine vollständige Rückkehr des lin-Stammes zur Wildtypzusammensetzung entweder gar nicht möglich ist oder sich erst in späteren Generationen einstellen könnte. Ein Fehlen der natürlichen Rückselektion könnte darauf hindeuten, dass in einem oder mehreren Genloci des Polygensystems Allele fixiert sind.

Zusammenfassend ergibt sich damit aus dem Vergleich des lin-Stammes mit Laborstämmen von D. subobscura, dass:

1) der lin-Stamm in allen vier Autosomen jeweils für den chromosomalen Strukturtyp "Standard", der in dem Ausgangsstamm der am häufigsten vorkommende war, und an acht von elf Enzymloci, die in der Ausgangspopulation polymorph waren, monomorph ist.
   Die für den lin-Stamm gefundene Fixierung von Strukturtypen und Enzymallelen kann sowohl durch die gerichtete Selektion als auch durch Inzucht erklärt werden. Zwischen den beiden Mechanismen als Ursache für das gefundene Ergebnis kann nicht unterschieden werden.

2) der lin-Stamm in drei von elf Enzymloci (Chromosomen O bzw. U) noch polymorph ist.
   Dieses Ergebnis ist auf Grund der starken Inzucht, der der Stamm selbst auch noch nach der erfolgten gerichteten Selektion unterworfen war, nur durch balancierende Selektion erklärbar. Da angenommen werden kann, dass Enzymallele selbst neutral sind, kann geschlossen werden, dass der Polymorphismus an diesen Enzymloci durch enge Koppelung mit Loci, die auf die Verhaltensänderung direkten Einfluss haben, zurückzuführen ist.

3) der lin-Stamm im Licht eine stark reduzierte Fekundität zeigt.
Dieser Befund kann entweder auf reduzierte genetische Variabilität in Folge von Inzucht oder auf genetische Veränderungen im Hintergrund des Polygensystems des Verhaltens beruhen. Ein Hinweis darauf, dass beim lin-Stamm gleichzeitig verschiedenartige Veränderungen des Polygensystems erfolgt sein könnten, ergibt sich aus den Untersuchungsergebnissen der lin^{L20}-Linie. Im Vergleich zum lin-Stamm zeigt diese Linie im Licht und im Dunkeln einen starken Fertilitätsverlust. Es kann daraus geschlossen werden, dass im lin-Stamm innerhalb des Polygensystems für das sexuelle Verhalten in einem oder mehreren Loci Allele fixiert wurden.

Es schliesst sich nun die Frage an, ob der lin-Stamm für das Merkmal Lichtunabhängigkeit des Paarungsverhaltens selbst reinerbig ist, oder ob - wenn das Merkmal polygen bedingt ist - noch Faktoren für die Lichtabhängigkeit segregieren.

Mit Hilfe von direkten Selektionsexperimenten soll nun im zweiten Teil der vorliegenden Untersuchung versucht werden, den Anteil der vier Autosomen an der genetischen Determination des Merkmals Lichtunabhängigkeit des Werbungs- und Paarungsverhaltens zu quantifizieren.

IV. Qualitativer Beitrag der Autosomen zur Lichtunabhängigkeit des Paarungsverhaltens in Selektionslinien.

IV. 1. Problemstellung

Im zweiten Teil der vorliegenden Untersuchung sollte nun mit Hilfe einer bestimmten Selektionsmethode der Anteil der einzelnen Autosomen an der genetischen Determination des Merkmals "Lichtunabhängigkeit" des Paarungsverhaltens von D. subobscura untersucht werden. Hierzu wurden Tiere des lin-Stammes mit Wildtieren spezifischer Stämme von D. subobscura, die ein "normales" Balzverhalten zeigten, gekreuzt und die F_1-Generation zum Ansetzen der Selektionsexperimente benutzt. Das Schicksal des lin-Genoms wurde dann in aufeinanderfolgenden Generationen verfolgt. Um die Chromosomen nach ihrer Herkunft unterscheiden zu können, musste nach einer genetischen Markierung gesucht werden. Sichtbare Mutanten, wie zum Beispiel Flügelabnormitäten, Augenfarben-, Körperfarben-, Borstenvarianten und dergleichen, konnten für die Kreuzungen nicht verwendet werden, da eine Beeinflussung des Paarungsverhaltens durch das Merkmal selbst nicht ausgeschlossen werden konnte. So wurde die Methode der zweifachen Markierung mit seltenen Enzymallelen und chromosomalen Strukturtypen gewählt. Durch die Allozyme kann nur ein sehr kleiner Teil jedes Chromosoms gekennzeichnet werden. Chromosomen-Inversionen dagegen decken grössere Bereiche eines Chromosoms ab, da innerhalb einer Inversion liegende Gene vor Austausch geschützt sind. Allgemein ist Rekombination zwischen homologen Chromosomen in diesen Experimenten auch dadurch vermindert, dass in den Männchen von Drosophila ein cross-over in der Meiose unterdrückt wird. Es ist zu erwarten, dass sich die relativen Häufigkeiten

der lin-Chromosomen und der Markerchromosomen aus den Wildstämmen im Selektionsexperiment verändern, wenn das entsprechende Chromosom einen Einfluss auf die Verhaltensänderung Lichtunabhängigkeit hat.

IV. 2. Vorversuche

IV. 2. 1. Herstellung und cytologische und elektrophoretische Überprüfung der Experimentalstämme.

Zunächst wurden aus verschiedenen Wildstämmen homozygote Linien für seltene Allele der Enzymloci Mdh, Me, Pgm und Phi, die auf jeweils einem der vier Autosomen lokalisiert sind, hergestellt. Es wurden solche Allele ausgewählt, die sich elektrophoretisch gut von den entsprechenden Allelen des lin-Stammes unterscheiden liessen. Experimentell wurden aus Wildstämmen über Einpärchen-Kulturen mittels Allozymtest Tiere herausgesucht, die die Allele Phi^{108} [wild (E)], Pgm^{97} [wild (I)], Me^{103} [wild (O)] und Mdh^{105} [wild (U)] trugen. Die Nachkommen dieser Tiere wurden durch Inzucht für das entsprechende Allel homozygot gekreuzt und als Ausgangsstämme für die Experimente benutzt.

Vor der Einkreuzung mit dem lin-Stamm wurden die vier Markerstämme zusätzlich in den Enzymsystemen Aph-3, Lap-4, Mdh, Me, Pgm und Phi elektrophoretisch untersucht. Tab. 5 zeigt für diese vier Markerstämme die Allelfrequenzen an diesen sechs Enzymloci und zum Vergleich diejenigen des lin-Stammes.
Am Aph-3-Locus waren die Stämme wild (E) und wild (U) monomorph für das lin-Allel, die Stämme wild (O) und wild (I) polymorph für das lin- und ein anderes Allel. Im Lap-4-System war in lin ein Polymorphismus gefunden worden, dessen häufigstes Allel in den Stämmen wild (E)

		S T Ä M M E				
Enzym-locus	Allel	lin	wild (E)	wild (I)	wild (O)	wild (U)
Aph-3	n	134	100	100	100	100
	100	0,0	0,0	+	30,0	0,0
	107	100,0	100,0	+	70,0	100,0
Lap-4	n	220	100	100	100	100
	104	80,9	100,0	+	100,0	0,0
	106	0,0	0,0	+	0,0	100,0
	107	19,1	0,0	+	0,0	0,0
Mdh	n	100	-	100	100	100
	96	100,0		100,0	100,0	0,0
	105	0,0		0,0	0,0	100,0
Me	n	142	100	200	100	100
	103	0,0	0,0	15,0	100,0	0,0
	105	32,4	18,0	0,0	0,0	0,0
	106	67,6	82,0	85,0	0,0	100,0
Pgm	n	126	-	100	100	100
	97	0,0		100,0	0,0	0,0
	101	100,0		0,0	100,0	100,0
Phi	n	100	100	100	-	-
	100	100,0	0,0	100,0		
	108	0,0	100,0	0,0		

Tab. 5: Allelzusammensetzung und Allelfrequenzen in den Stämmen lin, wild (E), wild (I), wild (O) und wild (U) in Prozent. (Erklärung siehe Text)
n = Anzahl getesteter Chromosomen
- = nicht untersucht
+ = Allel vorhanden, Frequenz nicht bestimmt

und wild (O) ausschliesslich vorkam. Nur der Stamm wild (U) war homozygot für ein in lin nicht vorkommendes Allel. Im Stamm wild (I) waren alle drei Allele nachzuweisen. Am Mdh-Locus waren die Stämme wild (I) und wild (O) für dasselbe Allel homozygot wie der lin-Stamm. Im Me-System trat im wild (E)-Stamm ein ähnlicher Polymorphismus mit denselben Allelen auf wie im lin-Stamm. In den anderen Stämmen trat das Allel Me^{105} des lin-Stammes nicht auf. Am Pgm-Locus unterschieden sich die Stämme wild (O) und wild (U) nicht vom lin-Stamm, am Phi-Locus der Stamm wild (I) ebenfalls nicht.

Zusammenfassend ergibt sich damit für die vier Selektionslinien (die mit Heterozygoten aus den Kreuzungen wild (E) x lin, wild (I) x lin, wild (O) x lin und wild (U) x lin begonnen wurden) die Möglichkeit, ausser an den jeweils gezielt homozygot gekreuzten Loci, an folgenden Enzymloci Häufigkeitsverschiebungen in den Folgegenerationen zu beobachten (siehe auch Tab. 7):

Aph-3 : in der Kreuzung wild (O) x lin mit 15% Ausgangshäufigkeit des Allels Aph^{100} aus dem wild (O)-Stamm in der F_1.

Lap-4 : in den Kreuzungen wild (E) x lin, wild (O) x lin und wild (U) x lin mit 9,6% Ausgangshäufigkeit des Allels Lap^{107} aus dem lin-Stamm in der F_1.

Me : in den Kreuzungen wild (I) x lin und wild (U) x lin mit 16,2% Ausgangshäufigkeit des Allels Me^{105} aus dem lin-Stamm in der F_1.

Für die karyologische Untersuchung wurden Männchen der etablierten vier Markerstämme mit virginellen Kü-Weibchen (Kü = Standardstamm für cytologische Untersuchungen) eingekreuzt. Die gefundenen cytologischen Daten sind in

Strukturtyp	lin	wild (E)	wild (I)	wild (O)	wild (U)
E_{ST}	20	0	10	19	0
$E_{1+2+9+12}$	0	14	0	0	0
$E_{1+2+9+4}$	0		0	0	20
I_{St}	20	0	10	8	0
I_{1}	0	14	0	11	20
O_{ST}	20	0	0	0	0
O_{6}	0	0	5	0	0
O_{3+4}	0	6	0	0	0
O_{3+4+2}	0	0	5	10	0
O_{3+4+6}	0	0	0	9	0
O_{3+4+8}	0	8	0	0	20
U_{St}	20	0	10	19	0
U_{1+2+8}	0	14	0	0	20
n	20	14	10	19	20

Tab. 6: Chromosomale Strukturtypen der Experimentalstämme für die Selektionstypen.
n gibt die Zahl der analysierten Chromosomen an.

der Tab. 6 zusammengefasst und denen des lin-Stammes gegenübergestellt. Für die vier Markerstämme ergeben sich folgende Ausgangsbedingungen:

E-Chromosom : Während im Stamm wild (I) und im Stamm wild (O) immer nur die Standardstruktur nachzuweisen war, wurden in den Stämmen wild (E) und wild (U) in allen F_1-Tieren jeweils ein grosser Inversionskomplex ($E_{1+2+9+12}/E_{St}$ und $E_{1+2+9+4}/E_{St}$) gefunden.

I-Chromosom : Hier trat im Stamm wild (I) nur die Standardstruktur auf, während sonst die kurze Inversion I_1 in allen anderen drei Stämmen gefunden wurde, in wild (E) und wild (U) homozygot in wild (O) heterozygot (ca. 40% I_{St} und 60% I_1).

O-Chromosom : Alle Markerstämme waren durch verschiedene Inversionskomplexe gekennzeichnet.

U-Chromosom : Der Strukturtyp U_{1+2+8} wurde in wild (E) und wild (U) ausschliesslich gefunden. In den anderen beiden Stämmen war nur die Standardstruktur U_{St} nachzuweisen.

Aus einem Vergleich mit den Ergebnissen des lin-Stammes ergibt sich zusammenfassend, dass folgende Chromosomen aus den Markerstämmen durch Inversion von denen des lin-Stammes in den vier Selektionsexperimenten unterschieden werden können (siehe Tab. 7):

E-Chromosom: wild (E) und wild (U)
I-Chromosom: wild (E), wild (O) und wild (U)
O-CHromosom: wild (E), wild (I), wild (O) und wild (U)
U-Chromosom: wild (E) und wild (U)

Chromosom	Enzymlocus	Allel	wild (E) x lin		wild (I) x lin		wild (O) x lin		wild (U) x lin	
			wild (E)	lin	wild (I)	lin	wild (O)	lin	wild (U)	lin
E	Phi	100	0,0	100,0	-		-		-	
		108	100,0	0,0						
Strukturtyp			$E_{1+2+9+12}$	St					$E_{1+2+9+4}$	St
I	Aph-3	100	-		-		30,0	0,0	-	
		107					70,0	100,0		
	Pgm	97	-		100,0	0,0	-		-	
		101			0,0	100,0				
Strukturtyp			I_1	St	-		I_1, St	St	I_1	St
O	Lap-4	104	100,0	80,9	-		100,0	80,9	0,0	80,9
		106	0,0	0,0			0,0	0,0	100,0	0,0
		107	0,0	19,1			0,0	19,1	0,0	19,1
	Me	103	-		15,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0
		105			0,0	32,4	0,0	32,4	0,0	32,4
		106			85,0	67,6	0,0	67,6	100,0	67,4
Strukturtyp			O_{3+4}	St	O_6	St	O_{3+4+2}	St	O_{3+4+8}	St
			O_{3+4+8}		O_{3+4+2}		O_{3+4+6}			
U	Mdh	96	-		-		-		0,0	100,0
		105							100,0	0,0
Strukturtyp			U_{1+2+8}	St	-		-		U_{1+2+8}	St

Tab. 7: Chromosomale und genische Zusammensetzung der Ausgangsstämme für die vier Selektionsexperimente. Wiedergegeben sind nur die Allozyme und Strukturtypen, für die Unterschiede zwischen dem lin-Stamm und den Markerstämmen bestanden und die in den Selektionslinien untersucht wurden.

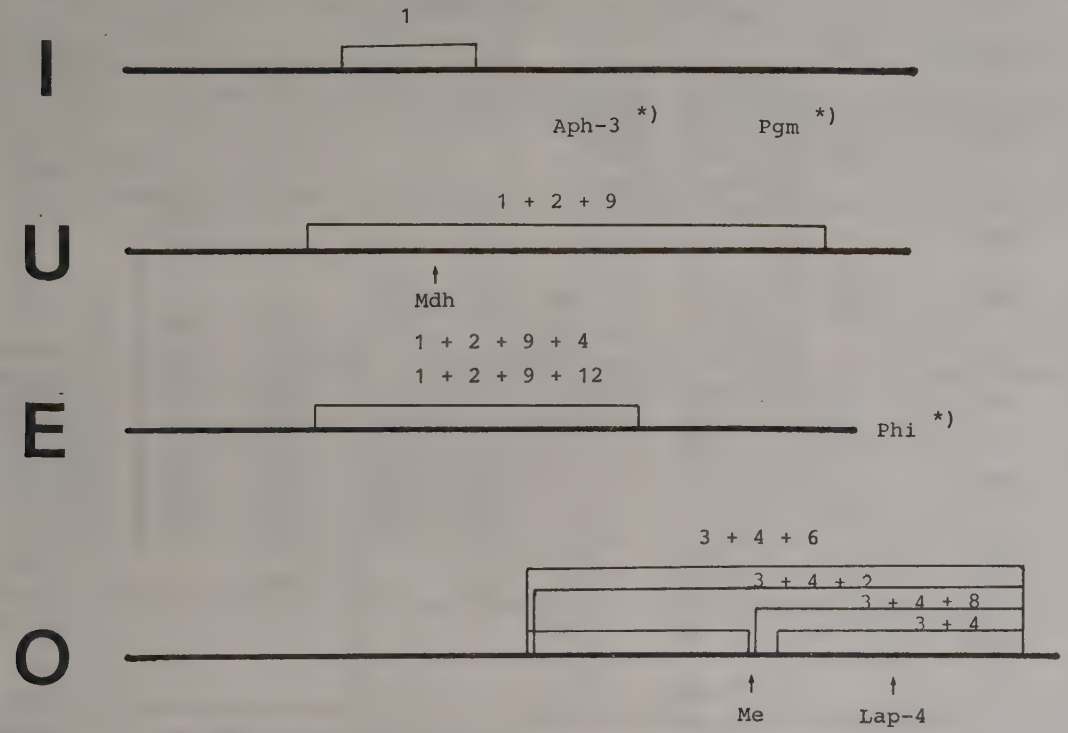


Abb. 3: Grobschematische Darstellung der Markierung der vier Autosomen durch Inversion und Allozyme für die Selektionsexperimente.

*) = noch keine genaue Lokalisation

Innerhalb der Inversionskomplexe lokalisiert und damit vor Austausch geschützt sind die beiden Loci Mdh (Inversion U_8) und Lap-4 (in dem Komplex O_{3+4}). Me liegt ausserhalb der Inversionen O_2 und O_6, aber nahe am Inversionskomplex O_{3+4}, so dass Rekombination nur selten zu erwarten ist. Für die anderen Enzymloci (Phi, Aph-3 und Pgm) sind bis jetzt noch keine exakten Lokalisationen bestimmt worden. Abb. 3 gibt eine Übersicht über die Markierung der vier Autosomen durch Inversionen und Allozyme, wie sie in den Selektionsexperimenten verwendet wurden.

IV. 2. 2. Inseminationstest

Mit der Bestimmung der Inseminationsrate wurde ein direkt messbarer Parameter als Test für den Paarungserfolg der verschiedenen Experimentalpopulationen eingeführt. Zur Bestimmung der Inseminationsrate wurden virginelle Weibchen und Männchen in 28 Ansätzen zu je 10 Paaren in kleine Plastikröhrchen von 10 ccm Inhalt gebracht, die mit Nährmedium beschickt waren. Die Versuchsansätze wurden 7 Tage lang unter absolutem Lichtausschluss, aber sonst normalen Kulturbedingungen gehalten. Nach Ablauf der Versuchszeit wurde untersucht, wieviele Weibchen in jedem Röhrchen inseminiert worden waren. Dazu wurden die inneren Sexualorgane herauspräpariert. In der mikroskopischen Untersuchung wurden die beiden Speicherorgane für Spermien genau untersucht. Nach der Besamung gelangen die Spermien durch den Uterus in das ventrale Receptaculum seminis, um dieses zuerst aufzufüllen, und dann in die paarigen Spermatheken (Demerec, 1950). Ein einmal besamtes Weibchen kann von diesem Spermienvorrat etwa einen Monat lang die abzulegenden Eier befruchten (Maynard-Smith, 1956). Im mikroskopischen Präparat sind die Spermien leicht an ihren Undulationsbewegungen zu identifizieren.

Um zur Sicherheit die Überlebensdauer der Spermien im Receptaculum seminis nochmals zu testen, wurden in einem Vorversuch 10 Paare eines Wildstammes in einen Kulturbecher gegeben und im Licht gehalten. Nach 3 Tagen wurden die Männchen entfernt. Nach weiteren 7 Tagen wurden die überlebenden Weibchen seziert. Alle Weibchen hatten noch lebende Spermien im Receptaculum seminis.

Der Paarungserfolg des lin-Stammes im Dunkeln wurde als Standardwert für die Experimente gewählt. Um festzustellen, in welchem Ausmass die Fähigkeit, im Dunkeln kopulieren zu können, nach einigen Generationen ohne Selektionsdruck wieder verlorengeht, wurde gleichzeitig ein Inseminationstest unter Lichtausschluss mit der Linie lin^{L20} durchgeführt.

Die Ergebnisse des Inseminationstestes sind in Tab. 8 aufgeführt. In beiden Versuchsreihen überlebten 7 Tage nach dem Ansatz jeweils etwa 80 Prozent der angesetzten Weibchen. Ein deutlicher Unterschied ergibt sich jedoch, wenn die Inseminationsraten verglichen werden. Vom lin-Stamm waren etwa 71% der überlebenden Weibchen besamt, während es für die lin^{L20}-Linie nur etwa 31% waren ($\chi^2 = 60{,}7$, $df = 1$, $p < 0{,}001$). Die Inseminationsraten in Prozentklassen inseminierter Weibchen pro Kultur bezogen auf die Gesamtzahl getesteter Kulturen sind in Abb. 4 graphisch wiedergegeben. Für den lin-Stamm ergibt sich eine zweigipflige Verteilung mit der Maxima in den Klassen 21-40 und 81-100% inseminierter Weibchen. Ganz anders ist demgegenüber die Häufigkeitsverteilung für die lin^{L20}-Linie. In der Mehrzahl der Kulturen sind weniger als 20% der Weibchen besamt und in nur 5% der Kulturen liegt die Inseminationsrate höher als 60%. Der gefundene Unterschied kann darauf beruhen, dass die 10 eingebrachten Männchen der lin^{L20}-Linie zwar im Prinzip kopulationsfähig waren, im Durchschnitt

Kultur	lin-Stamm		lin^{L20}-Linie	
	überlebende ♀♀	davon besamte ♀♀	überlebende ♀♀	davon besamte ♀♀
1	9	9	8	1
2	7	5	8	2
3	9	6	9	4
4	6	2	6	0
5	8	6	5	0
6	7	6	1	4
7	5	2	8	3
8	4	4	6	0
9	5	2	10	3
10	9	3	9	4
11	10	4	9	5
12	9	8	9	5
13	9	7	9	4
14	9	3	9	6
15	7	2	9	0
16	4	2	9	3
17	9	7	4	0
18	10	7	9	5
19	5	3	9	3
20	6	5	10	0
21	9	8	6	1
22	7	6	8	1
23	10	9	-	-
24	8	8	-	-
25	9	8	-	-
26	9	7	-	-
27	7	7	-	-
28	8	5	-	-
gesamt	214	151	182	57
in %	76,4	70,6	82,7	31,3

Tab. 8: Überlebens- und Inseminationsraten von Weibchen des lin- und lin^{L20}-Stammes im Dunkeln. Die Kulturen wurden jeweils mit 10♀♀ und 10♂♂ angesetzt und nach 7 Tagen analysiert.

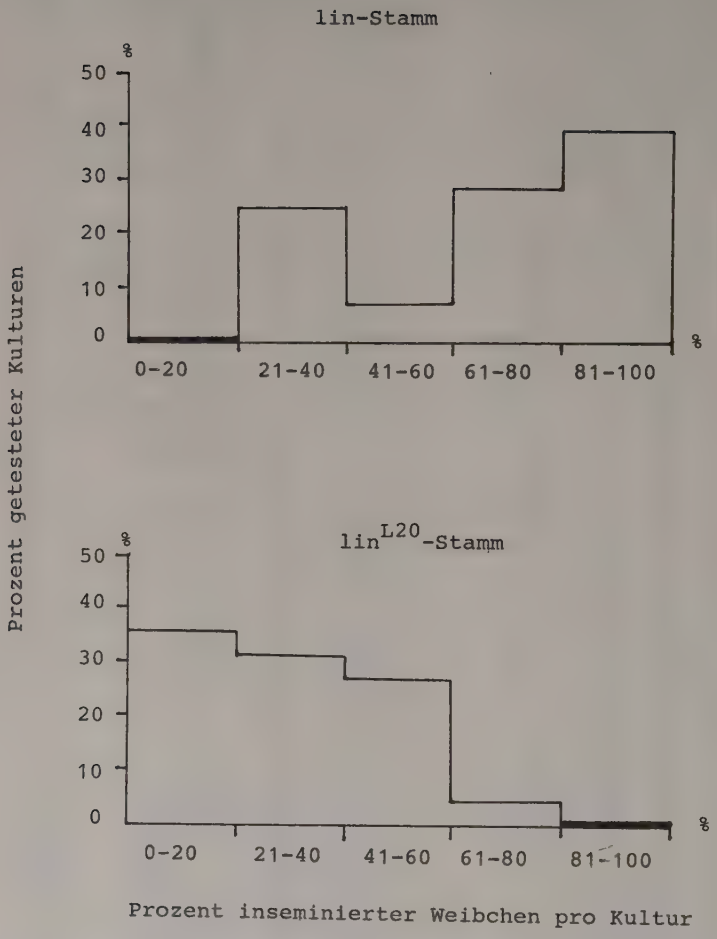


Abb. 4: Häufigkeit inseminierter Weibchen pro Kultur (in %), bezogen auf die Gesamtzahl getesteter Kulturen. (Die Rohdaten sind in Tab. 8 wiedergegeben).

aber weniger Weibchen besamen konnten. Eine andere Möglichkeit ist, dass nurmehr ein Teil der Männchen dieses Stammes überhaupt in der Lage war, die Weibchen zu besamen. Aus den experimentellen Daten kann nicht entschieden werden, welche der beiden Möglichkeiten zutrifft. Da ein Männchen normalerweise bis zu vier Weibchen besamen kann (Pinsker, pers. Mitt.), erscheint jedoch die letztere als wahrscheinlicher, wenn berücksichtigt wird, dass jeweils insgesamt 10 Weibchen und 10 Männchen pro Kultur eingebracht worden waren.

IV. 3. Selektionsexperiment

Die Einkreuzungen der lin-Tiere mit den Wildtieren der vier Markerstämme,die Fortführung und die genetische Analyse der Selektionslinien verlief für alle vier Ansätze in gleicher Weise und ist in Abb. 5 dargestellt. Je 400 virginelle Weibchen der Markerstämme wurden mit je 400 lin-Männchen zu je 20 Paaren eingekreuzt. Um zuerst möglichst viele Nachkommen zu erhalten, wurde diese Parental- und auch noch die daraus resultierende F_1-Generation, die in allen vier Autosomen heterozygot für lin- und Markerchromosomen war, im Licht gehalten. Nachdem die F_1-Weibchen ihre Eier abgelegt hatten, wurden die vier Serien jeweils in zwei getrennt weiterlaufende Linien aufgeteilt. Die eine Linie (D) wurde unter absolutem Lichtausschluss und die andere Linie (L) im Licht gehalten. Beide Linien wurden in diskreten Generationen in der Regel bis zur F_{10} fortgeführt. Hierbei wurden jeweils die Nachkommen einer Generation innerhalb derselben

Linien miteinander gemischt, um eine Aufsplitterung der Linien in getrennte Populationen zu vermeiden. Die ganzen Einkreuzungen wurden einige Zeit später wiederholt, so dass pro Versuchsserie jeweils zwei unabhängige Replikas unter Lichtausschluss mit Aufrechterhaltung des Selektionsdruckes (D_1 und D_2) und zwei unabhängige Replikas im Licht, also ohne Selektionsdruck auf die Fähigkeit, sich im Dunkeln paaren zu können, (L_1 und L_2) untersucht werden konnten (mit der Einschränkung, dass einige Linien nicht bis zum Ende weitergeführt werden konnten). Die Linien im Licht können als Kontrolle zum Versuch der Selektion unter Lichtausschluss benutzt werden.

Generation	Kreuzungsgang	Allozym-test	Chromosomen-analyse	Insemi-nations-test
P_0	+/+ x lin/lin	(siehe Tab. 7)		
F_1	+/lin			
F_2	+/+ +/lin lin/lin	+		+
	Licht Dunkel			
F_3		+		
F_5		+		
F_7		+		+
F_{10}		+	+	

Abb. 5: Herstellung, Haltung und genetische Analyse der Experimentalpopulationen.

Das Schicksal des eingebrachten lin- bzw. Wildgenoms wurde durch Allozymtests und Chromosomenanalysen verfolgt. Dazu wurde in den Generationen F_2, F_3, F_5, F_7 und F_{10} aus jeder Linie jeweils eine Stichprobe von 100 Tieren entnommen und diese elektrophoretisch im entsprechenden Markierungsenzym und in einigen Fällen dazu auch noch in anderen Enzymsystemen untersucht (siehe Tab. 7). So wurden in der F_7, also nach fünf Selektionsgenerationen, auch die Allelfrequenzen für die Enzymloci Aph und Lap, soweit sie sich in den Ausgangsstämmen unterschieden hatten, bestimmt. Das Allozymmuster von Me wurde, ausser in der Einkreuzung mit wild (E), in allen Selektionsexperimenten in die elektrophoretische Untersuchung miteinbezogen.

Die Chromosomenanalyse wurde in allen Linien, die acht oder mehr Selektionsgenerationen überlebt hatten, in der F_{10} durchgeführt. Hierzu wurden jeweils 40 Männchen aus den Selektionslinien mit Kü-Weibchen eingekreuzt und die daraus resultierende F_1 karyologisch untersucht. Der Selektionserfolg in Bezug auf die Fähigkeit, unter Lichtausschluss zu paaren, wurde durch Bestimmung der Inseminationsrate getestet. Zuerst, vor Beginn der Selektion in der F_2 und dann nach fünf Selektionsgenerationen in der F_7 wurde in allen Linien ein Inseminationstest im Dunkeln mit je 150 Paaren durchgeführt.

IV. 4. Ergebnisse

a) Inseminationstest

Die Bestimmung der Inseminationsrate wurde immer unter Lichtausschluss durchgeführt. Von jeweils 150 angesetzten Paaren pro Linie überlebten nach sieben Tagen durchschnittlich 100 Weibchen, die untersucht werden konnten. Die Ergebnisse aller Untersuchungen sind in Tab. 9 zusammengefasst. Da keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den parallelen Linien 1 und 2 auftraten, konnten jeweils die beiden Linien im Licht (L_1 und L_2) und die beiden Linien im Dunkeln (D_1 und D_2) zusammengefasst und zu den Berechnungen ihre Mittelwerte verwendet werden. Eine Ausnahme wurde in der Kreuzung wild (U) x lin gemacht. Hier konnte die Linie D_1 nach der F_7 nicht mehr weitergehalten werden. Ihr Wert im Inseminationstest (F_7:2,2%) weicht so sehr von allen anderen experimentellen Werten in den Linien im Dunkeln ab (worauf das Aussterben der Linie zurückgeführt werden muss), dass er für die weiteren Berechnungen ausgelassen wurde, um eine Verfälschung des allgemeinen Ergebnisses durch ihn zu vermeiden.
Werden zuerst die Werte in der F_2, also vor Beginn der kontinuierlichen Weiterzucht im Dunkeln betrachtet, so findet sich dort eine durchschnittliche Inseminationsrate von 5,6%. Dies sind nur 7,9% vom erstellten Standardwert für den lin-Stamm (70,6%). Innerhalb der vier verschiedenen Selektionsexperimente für die vier Autosomen wurden dann einmal in der F_7 die Linien im Licht mit denen im Dunkeln statistisch verglichen und zum anderen die F_7-Mittelwerte aus den beiden Parallellinien "Licht", bzw. "Dunkel" gegen den entsprechenden F_2-Wert ge-

Generation	wild (E) x lin Dunkel Licht	wild (I) x lin Dunkel Licht	wild (O) x lin Dunkel Licht	wild (U) x lin Dunkel Licht
F_2	3,6	10,3	4,4	4,6
F_7	30,9 — *** — 5,2	17,6 — *** — 1,5	21,9 — *** — 4,0	29,2 — *** — 0,0

Tab. 9: Dunkelinsemination in Prozent inseminierter Weibchen in den vier Selektionsexperimenten bei Beginn (F_2) und nach 5 Generationen (F_7). Angegeben sind die Mittelwerte aus den beiden parallelen Licht- und Dunkellinien mit je n = 100 untersuchten Weibchen.
Getestet wurde die Signifikanz der Abweichung der Werte zwischen F_2 und F_7 und in der F_7 zwischen Licht- und Dunkel-Behandlung.
* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$

testet. Hierbei wird der Effekt der kontinuierlichen Selektion sowohl im Dunkel wie auch im Licht nach fünf Selektionsgenerationen bereits deutlich erkennbar.

In allen vier Experimenten ist der Unterschied zwischen Licht- und Dunkellinien statistisch hoch signifikant mit den Werten $\chi^2 = 50,55$ für wild (E) x lin, $\chi^2 = 30,95$ für wild (I) x lin, $\chi^2 = 29,55$ für wild (O) x lin, $\chi^2 = 76,68$ für wild (U) x lin; für alle gilt $df = 1$ und $p < 0,001$. Im Vergleich der F_7 gegen die F_2 sanken die Werte aus den Linien im Licht in drei Experimenten ab, nur in der Kreuzung wild (E) x lin erhöhte sich der Wert geringfügig, was aber statistisch nicht signifikant ($\chi^2 = 0,696$, $df = 1$) ist. Dagegen stiegen die Werte aus den Linien im Dunkeln in allen vier Experimenten statistisch hoch signifikant an. Der höchste Wert wurde in der Kreuzung wild (E) x lin erreicht mit 30,9% inseminierter Weibchen ($\chi^2 = 57,7$, $df = 1$, $p < 0,001$). Fast gleich ist der Selektionserfolg in der Selektionslinie wild (U) x lin mit 29,2% ($\chi^2 = 44,3$, $df = 1$, $p < 0,001$). Hier ist auch ein besonders drastischer Abfall der Inseminationsrate in den beiden Lichtlinien auf 0,0% ($\chi^2 = 10,5$, $df = 1$, $p < 0,001$) zu erkennen. Ebenfalls hoch signifikant ist der Unterschied zwischen F_2 und F_7 in den Dunkellinien beim Selektionsexperiment wild (O) x lin mit $\chi^2 = 26,59$, $df = 1$, $p < 0,001$, während in den Lichtlinien kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Inseminationsraten festgestellt werden konnte. Im Selektionsexperiment wild (I) x lin sind wieder beide Differenzen signifikant, in den Dunkellinien mit

$\chi^2 = 5,39$, df = 1, $p < 0,05$ und in den Lichtlinien $\chi^2 = 9,41$, df = 1, $p < 0,01$.

Werden nun alle Werte aus den Selektionslinien im Dunkeln zusammengefasst, so zeigt sich nach fünf Generationen Selektionsdruck auf die Fähigkeit, im Dunkeln paaren zu können, ein steiler Anstieg der Inseminationsrate auf durchschnittlich 24,4%, das sind 34,6% vom Standardwert für den lin-Stamm (70,6%). In den Linien im Licht, das heisst ohne direkten Selektionsdruck auf die Dunkeltüchtigkeit, dagegen fiel die Inseminationsrate ab auf 2,6%, das sind nur noch 3,7% des lin-Standards und auch weniger als der Vergleichswert der lin^{L20}-Linie (33,6%). Bestätigt wurden diese Ergebnisse noch einmal in der Kreuzung wild (O) x lin in der F_{17}, also nach 15 Selektionsgenerationen, in der ein weiterer Test durchgeführt werden konnte. Hier betrug die Inseminationsrate in der Dunkellinie (D_1) 25,0% und in der Lichtlinie (L_1) 0,0%.

b) Allozymtest

Da in den verschiedenen Untersuchungslinien unterschiedliche Enzymloci getestet wurden, sollen die Ergebnisse der Untersuchungen nach Einkreuzungen getrennt wiedergegeben werden. Die Ergebnisse wurden statistisch überprüft, indem die Signifikanz der Abweichung der Allelfrequenzen in den einzelnen Generationen vom Ausgangswert in der F_2 berechnet wurde. Dieser F_2-Wert wurde experimentell ermittelt und wich für die jeweiligen alternativen Allele meistens geringfügig vom 50%-Wert ab, wie es aus der Einkreuzung Markerstamm x lin zu erwarten ist. Für die Enzymloci Aph-3, Lap-4, und Me

lagen jedoch andere, in Tab. 17, 12, 14, 16 angegebene Ausgangswerte vor. Unterschieden sich die beiden Parallellinien im Licht, bzw. im Dunkeln nicht signifikant voneinander, so wurden ihre Mittelwerte gegeneinander verglichen.

1. Selektionsexperiment wild (E) x lin

In Tab. 10 sind die Frequenzen des Allels Phi^{100} aus dem lin-Stamm im Verlauf der Beobachtungsgenerationen wiedergegeben. In beiden Linien im Dunkeln D_1 und D_2 steigen die relativen Häufigkeitswerte für das lin-Allel kontinuierlich bis zur F_{10} an, in der Linie D_2 verdrängt es sogar das eingekreuzte Markerallel vollständig. Die statistische Überprüfung ergibt eine signifikante Abweichung vom Erwartungswert aus der F_2 (49,8% für das lin-Allel Phi^{100}). Die Werte sind: F_7 gegen F_2 : Linie D_1 $\chi^2 = 118,58$, Linie D_2 $\chi^2 = 200,0$, F_{10} gegen F_2 : Linie D_1 $\chi^2 = 48,02$, Linie D_2 $\chi^2 = 200,0$, für alle gilt $df = 1$ und $p < 0,001$. Dagegen ist zwar in beiden Lichtlinien L_1 und L_2 auch ein geringer Anstieg der Frequenz des lin-Allels zu verzeichnen, doch, wie aus Abb. 6 zu erkennen, weicht der Verlauf der Kurven der beiden Lichtlinien deutlich von dem der beiden Dunkellinien ab. Der Unterschied zwischen den Mittelwerten der Linien $D_1 + D_2$ und L_1 und L_2 ist statistisch eindeutig signifikant in der F_7 mit $\chi^2 = 97,64$, $df = 1$, $p < 0,001$ und in der F_{10} mit $\chi^2 = 119,8$, $df = 1$, $p < 0,001$. Da das Phi-Gen das Chromosom E markiert, kann auf einen deutlichen Effekt dieses Chromosoms auf die Fähigkeit im Dunkeln paaren zu können geschlossen werden.

Im selben Experiment wurden auch die Allelhäufigkeiten für das Lap-Gen ermittelt.

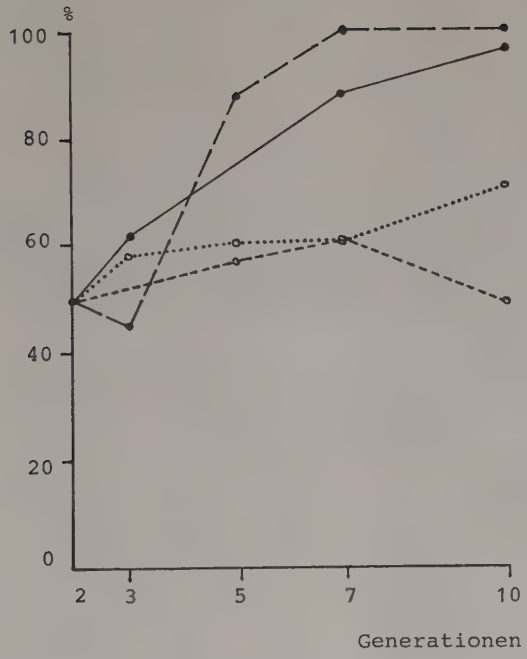


Abb. 6: Frequenzen des Allels Phi^{100} (E-Chromosom) in den Selektionslinien Phi^{108} x lin.
Dunkel: D_1 und D_2
Licht: L_1 und L_2

Generation	D_1	D_2	L_1	L_2
F_2	49,8	49,8	49,8	49,8
F_3	61,5	44,9	-	58,3
F_5	-	88,0	57,0	60,0
F_7	88,5	100,0	60,6	60,5
F_{10}	96,2	100,0	49,0	71,0

Tab. 10: Allelfrequenzen von Phi^{100} in der Selektionslinie wild (E) x lin. Zahl der getesteten Chromosomen je Stichprobe n = 200.

Generation	D_1	D_2	L_1	L_2
F_2	48,3	48,3	48,3	48,3
F_3	54,0	45,5	34,5	46,0
F_5	49,5	37,5	33,0	46,0
F_7	50,5	31,5	40,5	47,5
F_{10}	50,5	32,0	43,5	23,0

Tab. 11: Allelfrequenzen vom Pgm^{101} in der Selektionslinie wild (I) x lin. Zahl der getesteten Chromosomen je Stichprobe n = 200.

Die Untersuchung weist nur in einer Lichtlinie L_2 eine Zunahme der Häufigkeit des lin-Allels Lap^{107} auf, wobei dieser Wert stark von den anderen drei viel niedrigeren Werten abweicht, so dass kein klarer Hinweis auf einen Effekt der mit dieser Marke gekoppelten Gene abgeleitet werden kann (Tab. 17).

2. Selektionsexperiment wild (I) x lin

Die Frequenzen des lin-Allels Pgm^{101} sind in Tab. 11 aufgeführt. Während in der Linie D_1 die Ausgangshäufigkeiten aus der F_2 praktisch erhalten bleibt, sinken die Werte der anderen Linien etwas nach unten ab, in D_2 und L_2 in der F_{10} signifikant (D_2 χ^2 = 31,08, L_2 χ^2 = 65,97, für beide df = 1, $p < 0{,}001$) unter den Ausgangswert. Die statistische Überprüfung ergibt eine signifikante Abweichung innerhalb der beiden Parallellinien, so dass ein Vergleich der Mittelwerte zwischen Licht- und Dunkellinien nicht zulässig ist. Die Verlaufskurven in Abb. 7 deuten durch ihr Abfallen eine schwache Selektion gegen das lin-Allel in beiden Lichtlinien an. In einer der beiden Dunkellinien scheint aber keine und in der zweiten Dunkellinie wieder eine schwache Selektion gegen dieses Allel zu bestehen. Ein eindeutiger Effekt der Selektion im Dunkeln oder im Licht kann aus den Ergebnissen nicht abgeleitet werden. Ausserdem wurde in diesem Experiment in jeder getesteten Generation auch der Me-Locus untersucht (Tab. 12).

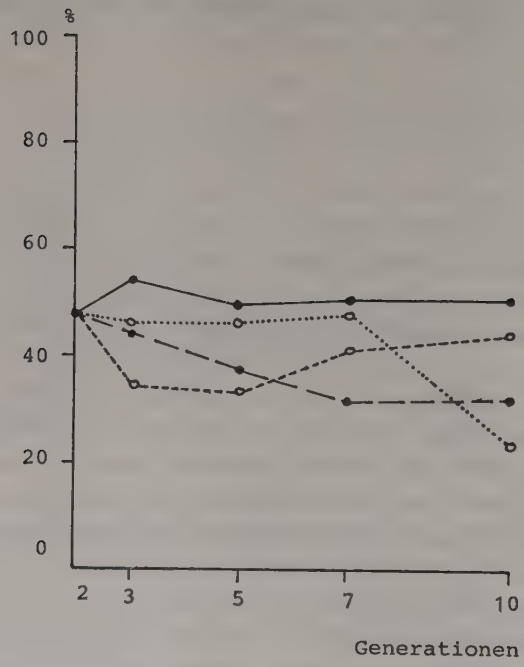


Abb. 7: Frequenzen des Allels Pgm^{101} (I-Chromosom) in den Selektionslinien Pgm^{97} x lin.
Dunkel: D_1 und D_2
Licht: L_1 und L_2

Generation	D_1	D_2	L_1	L_2
F_2	2,3	2,3	2,3	2,3
F_3	6,5	3,0	15,5	2,0
F_5	5,0	3,0	9,5	1,5
F_7	3,5	1,0	5,0	3,5
F_{10}	0,0	0,0	3,5	0,0

Tab. 12: Allelfrequenzen von Me^{105} in der Selektionslinie wild (I) x lin. Zahl der getesteten Chromosomen je Stichprobe n = 200.

Das lin-Allel Me^{105} nahm in allen Linien an Häufigkeit ab und wurde in drei Linien vollständig verdrängt. Nur in L_1 war es in der F_{10} noch mit einem geringen Prozentsatz nachzuweisen. Da der Verlauf der Häufigkeitsabnahme in allen vier Linien vergleichbar ist, muss angenommen werden, dass keine gerichtete Selektion für oder gegen das lin-Allel im Zusammenhang mit dem Selektionsdruck auf Lichtunabhängigkeit sondern eine natürliche Selektion gegen dieses Allel stattgefunden hat.

3. Selektionsexperiment wild (O) x lin

Die erste Einkreuzung (D_1 und L_1) konnte bis zur F_{17} weitergeführt und untersucht werden. Die Werte sind in Tab. 13 aufgeführt. In allen vier Linien streuen die relativen Häufigkeitswerte des lin-Allels Me^{106} bis zur F_7 nur in einem engen Bereich um 50%, was eine leichte Erhöhung in Bezug auf den Ausgangswert von 43,4% aus der F_2 bedeutet. Diese bleibt auch in den drei Linien D_2,

Generation	D_1	D_2	L_1	L_2
F_2	43,4	43,4	43,4	43,4
F_3	40,5	48,0	51,5	44,5
F_5	50,0	50,0	54,5	41,5
F_7	49,0	53,5	50,5	48,0
F_{10}	31,0	59,5	66,0	45,5
F_{15}	64,5	-	50,0	-
F_{17}	70,0	-	57,0	-

Tab. 13: Allelfrequenzen von Me^{106} in der Selektionslinie wild (O) x lin.
Zahl der getesteten Chromosomen je Stichprobe
n = 200.

Generation	D_1	D_2	L_1	L_2
F_2	38,4	38,4	38,4	38,4
F_3	53,5	46,0	49,5	53,5
F_5	53,5	55,0	51,0	42,0
F_7	48,1	48,5	39,5	49,5
F_{10}	†	49,5	50,0	52,0

Tab. 15: Allelfrequenzen von Mdh^{96} in der Selektionslinie wild (U) x lin. Zahl der getesteten Chromosomen je Stichprobe
n = 200.
† = Linie D_1 starb nach der F_7 aus.

L_1 und L_2 in der F_{10} noch erhalten, während der Wert von D_1 hier absinkt. Doch in den nachfolgenden Tests in der F_{15} und F_{17} ist auch in der Linie D_1 wieder ein Anstieg des Allels Me^{106} zu beobachten. Die statistische Überprüfung ergibt keine signifikanten Unterschiede zwischen Licht- und Dunkellinien. Die Kurven in Abb. 8 zeigen durch ihren leichten Anstieg einen geringen Selektionseffekt für das lin-Chromosom O (das durch Me^{106} markiert ist) in allen vier Linien an, unabhängig vom Selektionsdruck auf Lichtunabhängigkeit. Im lin-Stamm war neben dem Allel Me^{106} auch noch das Allel Me^{105} in einer Häufigkeit von 32,4% vorhanden.

Generation	D_1	D_2	L_1	L_2
F_2	6,0	6,0	6,0	6,0
F_3	8,5	3,5	1,5	2,0
F_5	7,5	2,0	2,5	0,0
F_7	11,5	5,0	9,0	0,0
F_{10}	22,5	0,0	1,0	0,0
F_{15}	0,0	-	4,0	-
F_{17}	0,0	-	0,0	-

Tab. 14: Allelfrequenzen von Me^{105} in der Selektionslinie wild (O) x lin. Zahl der getesteten Chromosomen je Stichprobe n = 200.

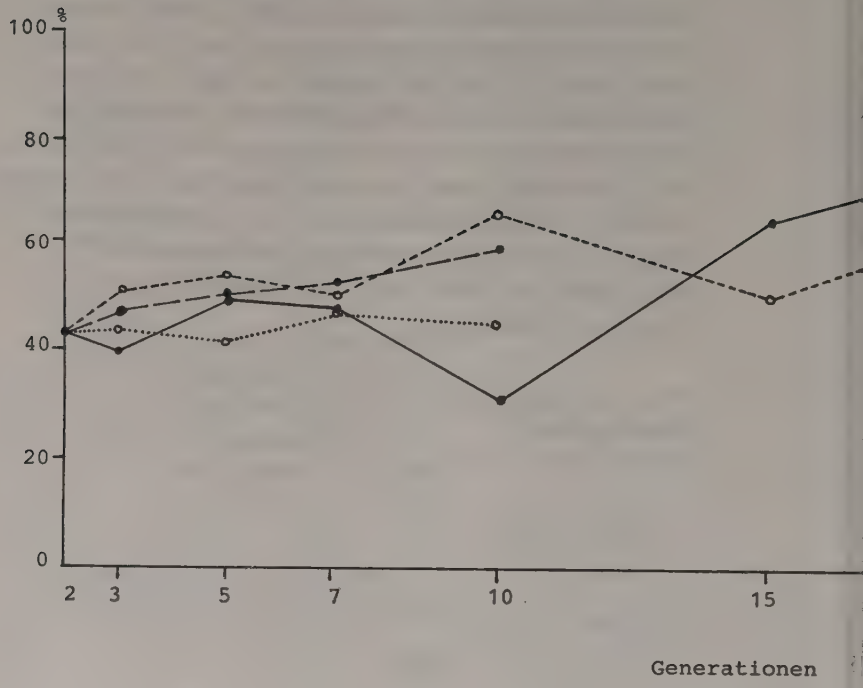


Abb. 8: Frequenzen des Allels Me^{106} (O-Chromosom) in den Selektionslinien Me^{103} x lin.
Dunkel: D_1 und D_2
Licht: L_1 und L_2

Wird dieses Allel Me^{105} betrachtet (Tab. 14), so fällt zuerst eine starke Häufigkeitszunahme desselben in der Dunkellinie D_1 auf. Aber in den anderen drei Linien fallen die Häufigkeitswerte bereits in der F_3 ab. Eine weitere Überprüfung der Experimentalpopulation D_1 in den Generationen F_{15} und F_{17} ergibt auch hier dann ein Abfallen der Frequenz dieses Allels.
Neben dem gezielten Vergleich der Allelhäufigkeiten in Me wurde auch der Lap-Locus mituntersucht. Der Lap-4-Locus (Tab. 17) zeigt eine leichte, nicht signifikante Zunahme der Häufigkeiten des lin-Allels in allen vier Linien. Licht- und Dunkellinien unterscheiden sich nicht signifikant ($\chi^2 = 0{,}13$, $df = 1$). Fasst man die Ergebnisse für Me und Lap zusammen, so ergibt sich zwar eine leichte Erhöhung der Häufigkeit der Marker-Allele des lin-Chromosoms O, die aber statistisch nicht abzusichern ist.
In Tab. 17 sind für das Aph-System, das in diesem Selektionsexperiment ebenfalls untersucht wurde, die Häufigkeitswerte des Allels Aph^{100} aufgeführt. Für alle vier Linien ergibt sich eine geringe Häufigkeitszunahme des Allels Aph^{100}, welche aber in den Lichtlinien statistisch signifikant höher ist als in den Dunkellinien ($\chi^2 = 5{,}19$, $df = 1$, $p < 0{,}05$).

4. Selektionsexperiment wild (U) x lin

Bei diesem Experiment konnte die Linie D_1 nur bis zur F_7 geführt werden. Die Ergebnisse der Tests sind in Tab. 15 wiedergegeben, die zugehörigen Kurven in Abb.9. Zwar ist in allen vier Linien zwischen F_2 und F_3 eine Erhöhung der Häufigkeiten des lin-Allels Mdh^{96} zu beobachten, aber dann os-

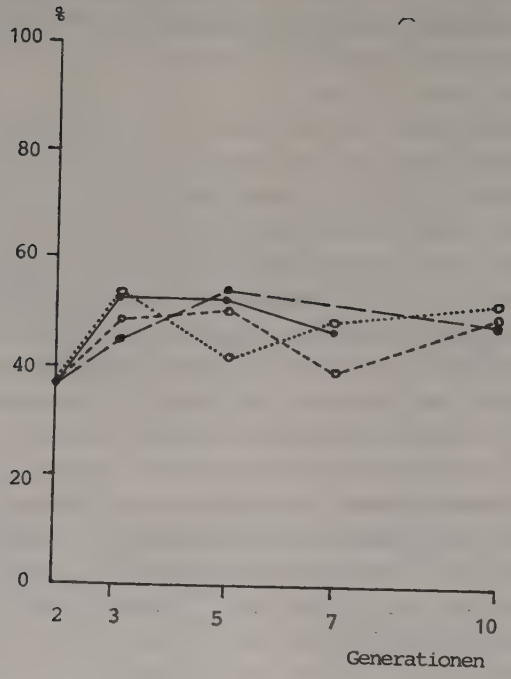


Abb. 9: Frequenzen des Allels Mdh^{96} (U-Chromosom) in den Selektionslinien Mdh^{105} x lin.
Dunkel: D_1 und D_2
Licht: L_1 und L_2

zillieren die Werte um 50%, womit das ursprüngliche Einkreuzungsverhältnis von 1 : 1 von lin- zu Markerchromosom wiederhergestellt und aufrechterhalten bleibt. Die geringfügigen Unterschiede zwischen Licht- und Dunkellinien sind nicht signifikant. Daraus lässt sich auf keine Beteiligung für eines von beiden eingekreuzten Chromosomen am Selektionsverlauf schliessen.
In diesem Experiment wurde wieder das Enyzmsystem Me mituntersucht (Tab. 16).

Generation	D_1	D_2	L_1	L_2
F_2	5,5	5,5	5,5	5,5
F_3	4,0	11,5	-	11,5
F_5	5,5	20,0	0,5	14,5
F_7	3,5	19,0	1,0	12,5
F_{10}	†	3,5	0,0	15,5

Tab. 16: Allelfrequenzen von Me^{105} in der Selektionslinie wild (U) x lin. Zahl der getesteten Chromosomen je Stichprobe n = 200.
† = Linie starb aus.

Während in D_1 und L_1 ein Absinken der Häufigkeitswerte des lin-Allels Me^{105} zu beobachten ist, steigen die Frequenzen in D_2 und L_2 zuerst an, bleiben in L_2 noch erhöht in der F_{10} und sinken in D_2 wieder unter den Ausgangswert ab. Ebenso unterschiedlich ist das Ergebnis am Lap-4-Locus. Die gefundenen Frequenzen (Tab. 17) des lin-Allels Lap^{107}

waren in D_1 und L_2 signifikant höher und in D_2 und L_1 niedriger als in der F_1. Werden die Ergebnisse der Untersuchungen am Me und Lap-Locus zusammen betrachtet, so ergibt sich kein eindeutiger Selektionseffekt für oder gegen das jeweilige lin-Allel.

Enzym-allel	Experimental-population	Genera-tion	D_1	D_2	L_1	L_2
Aph^{100}	wild (O) x lin	F_1	15,0	15,0	15,0	15,0
		F_7	28,5	33,5	37,5	39,9
Lap^{107}	wild (E) x lin	F_1	9,6	9,6	9,6	9,6
		F_7	9,0	3,5	3,0	34,0
Lap^{107}	wild (O) x lin	F_1	9,6	9,6	9,6	9,6
		F_7	14,5	10,1	11,5	11,5
Lap^{107}	wild (U) x lin	F_1	9,6	9,6	9,6	9,6
		F_7	21,7	7,5	5,3	14,4

Tab. 17: Allelfrequenzen der Allele Aph^{100} (I-Chromosom) und Lap^{107} (O-Chromosom) in den verschiedenen Selektionslinien. Die Werte für die F_1 ergeben sich rechnerisch aus den Daten in Tab. 5. Zahl der getesteten Chromosomen je Stichprobe:
n = 200.

c) Chromosomenanalyse

Die Chromosomenanalyse wurde in den Selektionsexperimenten nur einmal durchgeführt und zwar in allen denjenigen Linien, die mindestens bis zur F_{10} gehalten werden konnten. In Tab. 18 ist eine Übersicht über die relativen Häufigkeiten der verschiedenen chromosomalen Strukturtypen in den Experimentalpopulationen zu Beginn und nach Ablauf des Versuchszeitraumes gegeben.
In den Tabellen 19 bis 22 sind die einzelnen Ergebnisse aufgeführt, wobei nur diejenigen Chromosomen berücksichtigt sind, für die in den Ausgangsstämmen (Markerstämmen im Vergleich zum lin-Stamm) jeweils verschiedene chromosomale Strukturtypen gefunden worden waren (siehe Tab. 7). Dort, wo zwischen den parallelen Linien 1 und 2 keine signifikanten Unterschiede gefunden wurden, wurde ein Heterogenitätstest zwischen den Linien im Licht und im Dunkeln durchgeführt.
Hierbei ergibt sich im einzelnen:
In dem Selektionsexperiment wild (E) x lin (Tab. 19) waren alle vier Autosomen des Markerstamms durch Inversionen gekennzeichnet und daher von den Standardstrukturen des lin-Stammes zu unterscheiden. Von den Linien unter Lichtausschluss konnte nur noch eine (D_1) untersucht werden. Im Heterogenitätstest (Tab. 19) wurde eine statistisch hoch signifikante Differenz zwischen den Strukturtypenfrequenzen der Dunkellinie und den beiden Lichtlinien nur für das E-Chromosom gefunden ($\chi^2 = 18{,}67$, df = 1, $P < 0{,}001$). In den Strukturtypenfrequenzen für die Chromosomen I und O sind zwar leichte Schwankungen zu beobachten, die jedoch nicht eindeutig als Selektionsfolge interpretiert werden können. Im U-

Chromosom			E			I		O						U	
Experimentalpopulation	Linie	n	E_{St}	$E_{1+2+9+4}$	$E_{1+2+9+12}$	I_{St}	I_1	O_{St}	O_6	O_{3+4}	O_{3+4+2}	O_{3+4+6}	O_{3+4+8}	U_{St}	U_{1+2+8}
wild (E) x lin	F_1		.50	-	.50	.50	.50	.50	-	.43	-	-	.57	.50	.50
	F_{10} D_1	30	1.00	-	.00	.53	.47	.70	-	.13	-	-	.17	.60	.40
	F_{10} L_1	24	.58	-	.42	.37	.63	.79	-	.08	-	-	.19	.50	.50
	F_{10} L_2	25	.52	-	.48	.12	.88	.52	-	.24	-	-	.24	.56	.44
wild (I) x lin	F_1		1.00	-	-	1.00	-	.50	.25	-	.25	-	-	1.00	-
	F_{10} D_1	26	1.00	-	-	1.00	-	.73	.27	-	.00	-	-	1.00	-
	F_{10} D_2	26	1.00	-	-	1.00	-	.42	.23	-	.35	-	-	1.00	-
	F_{10} L_1	26	1.00	-	-	1.00	-	.42	.58	-	.00	-	-	1.00	-
	F_{10} L_2	26	1.00	-	-	1.00	-	.85	.15	-	.00	-	-	1.00	-
wild (O) x lin	F_1		1.00	-	-	.71	.29	.50	-	-	.50		-	1.00	-
	F_{10} D_1	23	1.00	-	-	.61	.39	.83	-	-	.17		-	1.00	-
	F_{10} D_2	28	1.00	-	-	.66	.36	.79	-	-	.21		-	1.00	-
	F_{10} L_1	24	1.00	-	-	.96	.04	.79	-	-	.21		-	1.00	-
	F_{10} L_2	26	1.00	-	-	.73	.27	.61	-	-	.39		-	1.00	-
wild (U) x lin	F_1		.50	.50	-	.50	.50	.50	-	-	-	-	.50	.50	.50
	F_{10} D_2	41	.90	.10	-	.32	.68	.88	-	-	-	-	.12	.39	.61
	F_{10} L_1	28	.68	.32	-	.29	.71	.75	-	-	-	-	.25	.57	.43
	F_{10} L_2	24	.58	.42	-	.29	.71	.33	-	-	-	-	.67	.29	.71

Tab. 18: Übersicht über die relativen Häufigkeiten der chromosomalen Strukturtypen in den Experimentalpopulationen nach Ablauf der Versuchszeit. Die Frequenzen in der F_1 ergeben sich rechnerisch aus den Daten in Tab. 6.

Chromosom bleiben die Ausgangshäufigkeiten praktisch erhalten.
Im Experiment wild (I) x lin (Tab. 20) konnte nur das O-Chromosom untersucht werden, da nur dieses sich im Stamm wild (I) in seinem chromosomalen Strukturtyp vom lin-Stamm unterschied. Aus den stark schwankenden Daten ergibt sich kein eindeutiger Hinweis auf eine Unterscheidbarkeit zwischen möglichen Selektionswirkungen der Chromosomen aus den Licht- und Dunkellinien.
Im Experiment wild (O) x lin (Tab. 21) war eine Markierung durch Inversionen für die Chromosomen I und U gegeben. Auch hier ergeben sich keine eindeutigen Unterschiede zwischen den Chromosomen aus Licht- und Dunkellinien, wenngleich die Daten für das O-Chromosom stark von den Ausgangshäufigkeiten abweichen.
Im Experiment wild (U) x lin (Tab. 22) waren wieder alle vier Autosomen des Markerstammes durch Inversionen markiert. Es konnte allerdings nur eine Dunkellinie (D_2) untersucht werden. Hier wurde wieder, wie in den Folgegenerationen der Kreuzung wild (E) x lin eine statistisch hoch signifikante Abweichung in den Inversionsfrequenzen zwischen Licht- und Dunkellinien nur für das E-Chromosom gefunden ($\chi^2 = 8{,}83$, $df = 1$, $p < 0{,}001$). Die Inversionsfrequenzen des O-Chromosoms unterscheiden sich stark zwischen den beiden Lichtlinien, so dass keine eindeutige Schlussfolgerung aus dem niedrigen Wert der Dunkellinie gezogen werden kann. Im U-Chromosom bleibt bis auf einen leicht erhöhten Wert in der Lichtlinie L_2 die Ausgangsfrequenz erhalten.

Chromosom	D_1	L_1	L_2
E	0,0***	41,7	48,0
		***	
I	46,7	62,5	88,0***
O	30,0*	20,8**	48,0
U	40,0	50,0	44,0
n	30	24	25

Tab. 19: Frequenzen der Nicht-Standard-Strukturtypen nach der F_{10} in der Selektionslinie wild (E) x lin. Getestet wurden die Signifikanz der Abweichung von 50% Ausgangshäufigkeit in den Linien und die Heterogenität zwischen den Linien.
* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$

Chromosom	D_1	D_2	L_1	L_2
O	26,9*	57,7	57,7	15,4***
n	26	26	26	26

Tab. 20: Frequenzen der Nicht-Standard-Strukturtypen nach der F_{10} in der Selektionslinie wild (I) x lin. Getestet wurde die Signifikanz der Abweichung von 50% Ausgangshäufigkeit in den Linien.
* = $p < 0,05$, *** = $p < 0,001$

Chromosom	D_1	D_2	L_1	L_2	F_1
I	39,1	35,7	4,2***	26,9	29,0
O	17,4**	21,4**	20,8**	38,5	50,0
n	23	28	24	26	

Tab. 21: Frequenzen der Nicht-Standard-Strukturtypen nach der F_{10} in der Selektionslinie wild (O) x lin. Getestet wurden die Signifikanz der Abweichung von der Ausgangshäufigkeit in der F_1 in den Linien und die Heterogenität zwischen den Linien.
** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$.

Chromosom	D_2	L_1	L_2
E	9,8***	32,1	41,7
		**	
I	68,3*	71,4*	70,8*
O	12,2***	25,0**	66,7
U	61,0	42,9	70,8*
n	41	28	24

Tab. 22: Frequenzen der Nicht-Standard-Strukturtypen nach der F_{10} in der Selektionslinie wild (U) x lin. Getestet wurden die Signifikanz der Abweichung von 50% Ausgangshäufigkeit in den Linien und die Heterogenität zwischen den Linien.
* = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$.

IV. 5. Diskussion

Das Merkmal Lichtunabhängigkeit des Werbungs- und Paarungsverhaltens von D. subobscura, dessen genetische Grundlage im zweiten Teil der Arbeit näher untersucht worden war, kann theoretisch polygen oder monogen bedingt erblich sein. Ausserdem können die Gene, die die Dunkeltüchtigkeit des lin-Stammes determinieren in ihrer Wirkung vollständig oder unvollständig rezessiv sein. Eine einfache Methode, um diese Frage experimentell zu klären, wäre folgender Versuchsansatz: lin-Tiere werden mit wild-Tieren, die jeweils in einem der vier Autosomen homozygot für eine sichtbare Mutante sind, gekreuzt. Die daraus resultierenden F_1-Nachkommen werden geselbstet und dann die verschiedenen F_2-Männchen getestet. In der F_2-Nachkommenschaft können lin/lin, lin/wild und wild/wild Tiere herausspalten. Wird nun der Paarungserfolg der verschiedenen F_2-Männchen jeweils mit lin-Weibchen im Dunkeln getestet, so sind theoretisch zwei Ergebnisse denkbar:

1) Für eine der vier Kreuzungen haben alle lin/lin Männchen und ein Teil der lin/wild Männchen Paarungserfolg, während für die anderen drei Kreuzungen nur ein Teil der lin-Männchen und auch stets einige wild-Männchen Paarungserfolg zeigen. Dieses Ergebnis würde darauf hindeuten, dass das Merkmal durch ein einziges Gen (= monogen gesteuertes Merkmal) oder durch ein Switchgen (= polygen bedingtes Merkmal mit einem Hauptgen), das auf demjenigen Chromosom lokalisiert ist, welches durch die Mutation in der ersten Kreuzung markiert ist, determiniert wird. Aus

dem Anteil kopulationsfähiger heterozygoter lin/wild Männchen könnte dann auf den Dominanzgrad dieses Gens geschlossen werden.

2) In allen vier Kreuzungen gibt es Paarungserfolg von nur wenigen lin-Männchen und auch wild-Männchen in jeder der vier Einkreuzungen. Dies könnte so interpretiert werden, dass das Merkmal polygen determiniert ist, dass viele Gene gleichmässig zum Merkmal beitragen und auf verschiedenen Chromosomen lokalisiert sind.

Ein solcher Versuch erscheint jedoch mit zumindest zwei Schwierigkeiten behaftet zu sein. Aus den Kurven des Inseminationstests des lin-Stammes (siehe Abb.4) ergibt sich, dass aus den Ergebnissen eines solchen Experimentes nur bedingt Aussagen möglich sind. Ausserdem würde der Versuch, einzelne Männchen zu testen, eine grosse Anzahl von Tieren erfordern, da mit einer hohen Ausfallquote zu rechnen ist. Dies würde auf Grund der reduzierten Fertilität des lin-Stammes eine zusätzliche technische Schwierigkeit bedeuten.

In den hier durchgeführten Experimenten wurden Enzymloci und chromosomale Strukturtypen als Markierung für die vier Autosomen verwandt, weil angenommen werden kann, dass durch die Verwendung von Laborstämmen, die homozygot für sichtbare Mutanten sind, zusätzliche Faktoren auftreten können, die primär mit der zu untersuchenden Eigenschaft des lin-Stammes nicht zusammenhängen. Zusätzlich wurden an Stelle einer Testgeneration mehrere aufeinanderfolgende Generationen in Experimentalpopulationen untersucht. Zu diesem Zwecke wurden lin-Tiere mit Laborstämmen, die jeweils in einem der vier Autosomen markiert waren, gekreuzt

und die larvale F_2-Nachkommenschaft jeweils in zwei Selektionslinien aufgeteilt, von denen die eine weiterhin im Licht, die andere aber unter absolutem Lichtausschluss gehalten wurde. Die Linien im Dunkeln waren einem starken Selektionsdruck auf das Merkmal Lichtunabhängigkeit ausgesetzt. In den Linien, die im Licht gehalten wurden, in denen also kein Selektionsdruck auf Dunkeltüchtigkeit ausgeübt wurde, sollte kontrolliert werden, wie sich diese Eigenschaft in nicht gezielt selektionierten Populationen verhält.

Der Selektionserfolg auf Dunkeltüchtigkeit sollte sich in den Dunkellinien nach einigen Generationen in einer Erhöhung der Inseminationsrate zeigen. Weiter kann erwartet werden, dass im Dunkeln bei Selektionserfolg eines oder mehrere der eingekreuzten Allele und Strukturtypen ihre Häufigkeiten gerichtet verändern. Und zwar sollte dasjenige Chromosom aus dem lin-Stamm, auf dem Gene liegen, welche wichtig für die Dunkeltüchtigkeit sind, in den Linien im Dunkeln an Häufigkeit zunehmen. Gleichzeitig sollte die Häufigkeit dieses Chromosoms in den Linien im Licht nicht verändert sein. Ein direkter Einfluss der Enzymallele wie auch der chromosomalen Strukturtypen auf die genetische Determination des Merkmals Dunkeltüchtigkeit kann dabei wahrscheinlich ausgeschlossen werden. Hingegen kann angenommen werden, dass die Enzymallele, die selbst neutral sind (Nei, 1975) mit den Genen für die Dunkeltüchtigkeit durch hitch-hiking mitselektioniert werden. Die benutzten Inversionen sind für den Verlauf der Selektion von Bedeutung, indem sie als Verhinderer von cross-over-Ereignissen dazu führen, dass die Selektion an einem grossen, erkennbaren Teilbereich des Chromosoms insgesamt angreift. Da ein direkter Ein-

fluss sowohl der Enzymloci wie auch der chromosomalen Strukturtypen auf die genetische Determination des Merkmals Dunkeltüchtigkeit ausgeschlossen werden kann, kann eine Erhöhung der Häufigkeiten eines "lin-Allels" (= Allel aus dem lin-Stamm) bzw. eines "lin-Strukturtyps (= Strukturtyp aus dem lin-Stamm) in der dazu parallelen Lichtlinie in Verbindung mit einer erhöhten Inseminationsrate im Dunkeln als Hinweis darauf interpretiert werden, dass auf dem entsprechenden Chromosom oder im Bereich dieser Markierungen Gene für die Dunkeltüchtigkeit lokalisiert sind. Die künstliche, gerichtete Selektion auf Dunkeltüchtigkeit muss dann eine eventuell stattfindende natürliche Selektion überlagert haben.

Werden nun die Ergebnisse der verschiedenen Selektionsexperimente betrachtet, so zeigt sich aus den Inseminationsraten im Dunkeln (siehe Tab. 9) ein deutlicher Erfolg der künstlichen Selektion. Ausgehend von der durchschnittlichen Inseminationsrate von 5,6% in der F_2-Generation, ist für die Dunkellinien eine starke Zunahme der Rate auf durchschnittlich 24,4% in der F_7-Generation zu erkennen. Der Erfolg der künstlichen Selektion im Dunkeln ist in allen vier Selektionsexperimenten zu erkennen. Die höchsten Werte wurden in den beiden Experimenten wild (E) x lin und wild (U) x lin erreicht, der niedrigste in wild (I) x lin. Demgegenüber liegen die Inseminationsraten für die Lichtlinien in der F_7-Generation mit nur durchschnittlich 2,6% deutlich unter diesen Werten. Dies ist dahingehend zu interpretieren, dass in den Populationen im Licht natürliche Selektion gegen die Fähigkeit, im Dunkeln paaren zu können, stattfand. In den Populationen im Dunkeln ist aber der Selektionsdruck auf diese

Fähigkeit so stark, dass er die Wirkung der natürlichen Selektion zurückdrängt.
Ein Vergleich mit den Daten aus der lin^{L20}-Linie (siehe Tab. 8) zeigt, dass in dieser Linie die Fähigkeit zur Dunkeltüchtigkeit langsamer verlorengeht als in den hier untersuchten Experimentalpopulationen, die im Licht gehalten wurden. Nach 20 Generationen im Licht beträgt die Inseminationsrate der lin^{L20}-Linie im Dunkeln immerhin noch 33,6%. Das viel schnellere Absinken in den Lichtlinien ist darauf zurückzuführen, dass die Experimentalpopulationen zu Beginn des Experiments nur zu 50% Gene des lin-Stammes enthielten.

Um nun eine Korrelation der Ergebnisse des Inseminationstests mit den Ergebnissen der Allozym- und Strukturtypenuntersuchung ableiten zu können, sollen zunächst die Ergebnisse dieser Tests nach Chromosomen geordnet zusammengefasst werden (siehe Abb. 10 und 11).

Chromosom E: Das lin-Allel Phi^{100} nimmt in den beiden Dunkellinien des Experiments wild (E) x lin sehr viel stärker an Häufigkeit zu als in den Lichtlinien. In den beiden Selektionsexperimenten, in denen das E-Chromosom der Markerstämme durch die grossen Inversionskomplexe $E_{1+2+9+4}$ bzw. $E_{1+2+9+12}$ markiert war (wild (E) x lin und wild (U) x lin), bleiben in den Lichtlinien die Inversionen etwa mit ihren Ausgangshäufigkeiten erhalten. In den Dunkellinien dagegen sind die Häufigkeiten der Inversionen nach der F_{10}-Generation signifikant geringer, dass heisst der Standard-Strukturtyp des lin-Stammes wird signifikant häufiger.
Aus diesem Ergebnis kann geschlossen werden, dass

Chro-mosom	Allel	Relative Häufigkeit in F_7-F_{10}	Mittlere Häufigkeit
		0 20 40 60 80 100 %	D L
E	Phi^{100}	D L	96,2 60,3 ***
I	Pgm^{101}	D L	41,5 44,8
O	Me^{106}	D L	(48,5 52,8)+
	Me^{105}	D L	(11,6 8,5)+
	Lap^{107}	D L	(11,6 13,3)+
U	Mdh^{96}	D L	49,0 48,0

Abb. 10: Durchschnittliche Häufigkeiten (in den Generationen F_7 und F_{10}) der lin-Allele in den Dunkel- und Lichtlinien. Die Häufigkeiten in der F_2 (×) betrugen jeweils 50%. Jeder Punkt der Abb. gibt den Mittelwert aus den Werten der F_7 und F_{10} für die Linie im Dunkeln (•), bzw. im Licht (○) wieder (siehe Tab. 10 bis 17).

*** = $p < 0{,}001$

+) = Ausgangshäufigkeit abweichend von 50%.

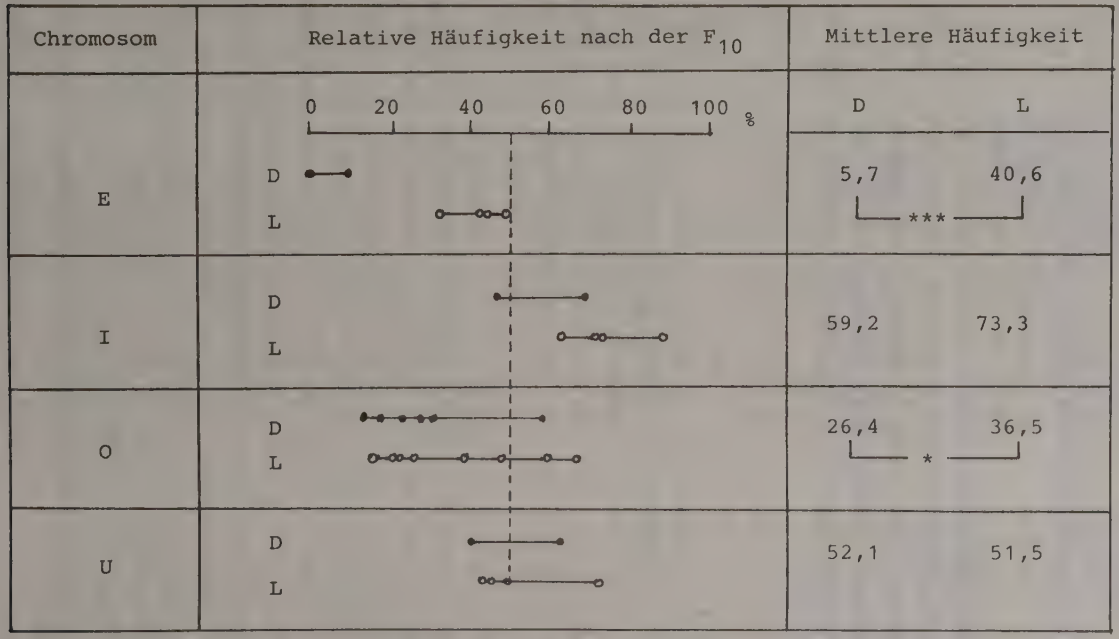


Abb. 11: Häufigkeiten der Inversionen nach der F_{10}-Generation in den Dunkel- und Lichtlinien (alle lin-Chromosomen tragen "Standard"-struktur). Die Häufigkeit in der F_1-Generation betrug jeweils 50%. Jeder Punkt der Abb. gibt das Ergebnis einer Licht- (○) bzw. einer Dunkel- (●) Linie wieder (siehe Tab. 19-20).

* = $p < 0,05$; *** = $p < 0,001$

auf dem E-Chromosom eines oder mehrere Gene des Merkmals Lichtunabhängigkeit lokalisiert sind.

Chromosom I: Das lin-Allel Pgm^{101} (Experiment wild (I) x lin) nimmt insgesamt gesehen in allen Populationen an Häufigkeit ab. Die relativ kleine Inversion I_1 wurde als Markierung der Wildchromosomen in den drei Experimenten wild (E) x lin, wild (O) x lin und wild (U) x lin benutzt. Werden die Ergebnisse gemittelt, so ergibt sich nach Beendigung des Experiments eine höhere Inversionsfrequenz in den Lichtlinien als in den Dunkellinien, das heisst das lin-Chromosom I ist im Dunkeln häufiger. Der Unterschied ist aber statistisch nicht signifikant.

Chromosom O: Hier sind die Ergebnisse nicht eindeutig. Einerseits bleiben das lin-Allel Me^{105} (wild (I) x lin, wild (O) x lin und wild (U) x lin) und das lin-Allel Lap^{107} (wild (E) x lin, wild (O) x lin und wild (U) x lin), die mit 4% bzw. 9,6% in der F_2-Generation enthalten waren, bis zur F_{10}-Generation erhalten. Auch das Markerallel Me^{103} (Kreuzung wild (U) x lin) ändert in allen Linien seine Häufigkeit praktisch nicht. Signifikante Unterschiede ergeben sich aber zwischen Licht- und Dunkellinien für die Häufigkeiten der Inversionen. Das O-Chromosom ist in allen vier Selektionsexperimenten durch unterschiedliche Inversionen und Inversionskomplexe markiert, die aber alle im Bereich der Inversionen O_3, O_4 und O_6 liegen (siehe Abb. 5). Die Frequenzen der verschiedenen Inversionen ergeben nach Ablauf der Selektionszeit, dass die Standardstruktur des lin-Stammes in den Dunkellinien häufiger als in den Lichtlinien ist.

Chromosom U: Sowohl in den Allelfrequenzen des Enzymlocus Mdh (Kreuzung wild (U) x lin), wie auch in den Inversionsfrequenzen des Inversionskomplexes U_{1+2+8} in den beiden Experimenten wild (E) x lin und wild (U) x lin bleibt das Gleichgewicht von 50% der Ausgangsfrequenz fast konstant in allen Tests erhalten.

Aus diesen Ergebnissen können zusammen mit den Daten aus den Inseminationstests im Dunkeln nun folgende Schlussfolgerungen gezogen werden:

1) Der klare, positive Selektionserfolg auf Dunkeltüchtigkeit, der für alle Dunkellinien im Inseminationstest gefunden wurde, ist in drei unabhängigen Dunkellinien mit einer gerichteten Häufigkeitsänderung für das Enzymallel und den Strukturtyp des Chromosoms E korreliert. Für keines der drei anderen Autosomen konnte eine ähnliche Frequenzänderung beobachtet werden, so dass angenommen werden kann, dass dieses Ergebnis nicht auf Drift beruht, sondern dass auf dem E-Chromosom ein oder der Faktor für die Dunkeltüchtigkeit des lin-Stammes lokalisiert ist.

2) Für die Chromosomen U und I konnten in der F_{10}-Generation insgesamt keine signifikanten Unterschiede zwischen Licht- und Dunkellinien gefunden werden. Aus dem Ergebnis kann geschlossen werden, dass auf diesen Chromosomen keine oder nur unwichtige, oder zumindest keine im Inversionsbereich liegende Gene des Merkmals Dunkeltüchtigkeit liegen.

3) Für das Chromosom O ergeben sich aus den Häufigkeiten der Enzymallele des Me- und Lap-Locus an-

dere Ergebnisse als aus den Häufigkeiten der Inversionen. Aus den konstanten Häufigkeiten der Enzymallele kann vermutet werden, dass auf dem O-Chromosom keine Gene liegen, die für die Dunkeltüchtigkeit determinieren. Die höhere Häufigkeit des lin-Strukturtyps in den Dunkellinien lässt hingegen das Gegenteil vermuten. Hier muss allerdings in Betracht gezogen werden, dass in jeder dieser Experimentalpopulationen das entsprechende O-Chromosom der Wildtiere jeweils durch zwei verschiedene Inversionen oder Inversionskomplexe markiert war. Somit konnten in diesen Populationen jeweils drei verschiedene Inversionsheterozygote auftreten, wodurch ein eventuell vorhandener Heterosiseffekt aus der Kombination von lin- und Wildchromosomen möglicherweise verloren ging. Die unterschiedlichen Häufigkeiten der chromosomalen Strukturtypen könnten dann allein durch die unterschiedliche Fitness der verschiedenen Inversionsheterozygoten erklärt werden.

Schliesslich stellt sich nun noch die Frage nach dem Erbmodus des Faktors (oder der Faktoren) für die Dunkeltüchtigkeit (= lin-Faktor), der auf dem E-Chromosom gefunden wurde. Um die Frage nach dem Erbgang des Faktors im Dunkeln und im Licht zu untersuchen, müssen zunächst zwei Mechanismen, die genetische Drift und die natürliche Selektion, berücksichtigt werden. So waren die Populationsgrössen der verschiedenen Linien jeweils recht unterschiedlich. Die Anzahl Tiere in den Populationen im Licht blieb ungefähr konstant bei 800 Individuen, aber die Populationen im Dunkeln unterlagen stärkeren Schwankungen. Im Dunkeln nahm die Populationsgrösse in den Generationen F_3 und F_5 zuerst ab, um dann in einigen Linien wieder anzusteigen, bis in der F_{10} eine annähernd

gleiche Populationsgrösse wie im Licht erreicht wurde. Einige Linien im Dunkeln starben jedoch auch aus. Die effektive Populationsgrösse, das heisst die Anzahl der Tiere, die tatsächlich Nachkommen erzeugte, kann nur abgeschätzt werden. Geht man von einem durchschnittlichen Paarungserfolg von 5,6% für die F_2-Generation (siehe Tab. 9) und von einer anfänglich absoluten Populationsgrösse von 800 Tieren aus, so kann daraus berechnet werden, dass jeweils nur etwa 45 Männchen der F_2-Generation zur Erhaltung der Population im Dunkeln beitrugen.
Für die Annahme, dass auch die natürliche Selektion den Genpool stark verändert hat, spricht, dass für die Herstellung der Selektionslinien jeweils zwei ingezüchtete Stämme (= der lin-Stamm und der Markerstamm, jeweils wahrscheinlich homozygot für das entsprechende Chromosom) verwandt wurden. Eine Kreuzung solcher ingezüchteter Stämme kann in den nachfolgenden Generationen zu einem starken Heterosiseffekt führen, was auch für Populationen gezeigt werden konnte, in denen die Häufigkeiten von Enzymallelen untersucht wurden (Rasmuson et al., 1967; Jones and Yamazaki, 1974). Die geringe Variation in den Häufigkeiten der Enzymallele,die hier für den Untersuchungszeitraum von acht Generationen gefunden wurde, scheint dafür zu sprechen, dass die natürliche Selektion von grösserer Bedeutung war als die genetische Drift.
In Tab. 23 sind die gefundenen Häufigkeiten für den Locus Phi am Chromosom E aus den Selektionsgenerationen der vier Linien (Licht und Dunkel) des Experiments aufgeführt. Es treten die drei Genotypen 100/100, 100/108 und 108/108 auf, die im folgenden kurz mit A/A, A/a und a/a symbolisiert werden sollen. Aus der Tabelle geht hervor, dass in den meisten Stichproben eine Hardy-Weinberg-Verteilung vorliegt, nur in

wild (E) x lin

Generation		D_1 A/A	D_1 A/a	D_1 a/a	D_2 A/A	D_2 A/a	D_2 a/a	L_1 A/A	L_1 A/a	L_1 a/a	L_2 A/A	L_2 A/a	L_2 a/a
F_2	gef.	.20	.59	.21	.20	.59	.21	.20	.59	.21	.20	.59	.21
	erw.	.26	.50	.24	.26	.50	.24	.26	.50	.24	.26	.50	.24
		χ^2 = 5,74			χ^2 = 5,74			χ^2 = 5,74			χ^2 = 5,74		
F_3	gef.	.37	.49	.14	.13	.64	.23	-	-	-	.33	.51	.16
	erw.	.38	.47	.15	.20	.50	.30				.34	.49	.17
		χ^2 = 0,12			χ^2 = 3,41						χ^2 = 0,25		
F_5	gef.	-	-	-	.86	.04	.10	.25	.64	.11	.38	.58	.11
	erw.				.78	.21	.01	.32	.49	.19	.36	.48	.16
					χ^2 = 32,85***			χ^2 = 9,34**			χ^2 = 4,34		
F_7	gef.	.80	.17	.03	1.00	.00	.00	.35	.51	.14	.38	.45	.17
	erw.	.79	.20	.01	1.00	.00	.00	.36	.48	.16	.36	.48	.16
		χ^2 = 2,72			χ^2 = 0,00			χ^2 = 0,33			χ^2 = 0,34		
F_{10}	gef.	.96	.04	.00	1.00	.00	.00	.17	.64	.19	.55	.32	.13
	erw.	.96	.04	.00	1.00	.00	.00	.24	.50	.26	.51	.41	.08
		χ^2 = 0,01			χ^2 = 0,00			χ^2 = 7,87			χ^2 = 4,97		

Tab. 23: Frequenzen der drei Genotypen Phi^{100}/Phi^{100} (= A/A), Phi^{100}/Phi^{108} (= A/a) und Phi^{108}/Phi^{108} (= a/a) in der Kreuzung Phi^{108} x lin. Test auf Hardy-Weinberg-Verteilung, df = 2, Stichprobe pro Linie pro Generation n = 100 Tiere.
Signifikanzbereich: * = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$

drei Fällen konnte eine signifikante Abweichung von der Zufallsverteilung beobachtet werden. Im Licht beruht dies jedoch stets auf einem überhäufigen Auftreten des A/a Genotyps, was für einen Heterosiseffekt im Licht spricht.

Um die Frage nach der Erblichkeit des lin-Faktors zu klären, wurden mit Hilfe eines Rechners Simulationen durchgeführt. Da aus den Ergebnissen angenommen werden kann, dass der lin-Faktor eine mendelnde Einheit ist, wurden die Simulationen im Ein Locus - Zwei Allel-Modell durchgeführt. Die Computersimulationen gehen von der Voraussetzung aus, dass die Selektion zu zwei verschiedenen Zeitpunkten deutlich wirkt:

1) die natürliche Selektion wirkt mit zahlreichen Fitnesskomponenten in allen Linien als allgemeine Selektion zwischen Zygoten und Adulten. Sie soll im weiteren zusammengefasst als Viabilität bezeichnet werden (= W_V).
2) Die Selektion auf Paarungserfolg im Dunkeln (= W_F: Fertilität) wirkt nur entscheidend in den Dunkellinien.

Für die Simulation wird daher angenommen, dass im Licht alle drei Genotypen den gleichen Paarungserfolg haben (W_F=1,0). Ausserdem wirkt aber im Licht die natürliche Selektion mit einem starken Heterosiseffekt. Im Modell wird dafür die Viabilität W_V der Heterozygoten mit W_{Aa} = 1,0 angenommen, während die Homozygoten eine Viabilität von nur W_V = 1 - s haben. Da auch in beiden Lichtlinien das lin-Allel in den Generationen an Häufigkeit zunimmt, wurde durch Simulation eine Anpassung an die gefundenen Häufigkeitsänderungen der Phi-Allele gesucht. Die beste Anpassung ergab sich mit einer Fitness der lin/lin Homozygoten mit W_{AA} = 0,7 und einer Fitness der wild/wild Homozygoten mit W_{aa} = 0,5. Abb. 12

LICHT

W_V: AA = 0.70, Aa = 1.00, aa = 0.50

W_F: AA = 1.00, Aa = 1.00, aa = 1.00

DUNKEL

W_V: AA = 0.70, Aa = 1.00, aa = 0.50

W_F: AA = 1.00, Aa = 1-s, aa = 0.00

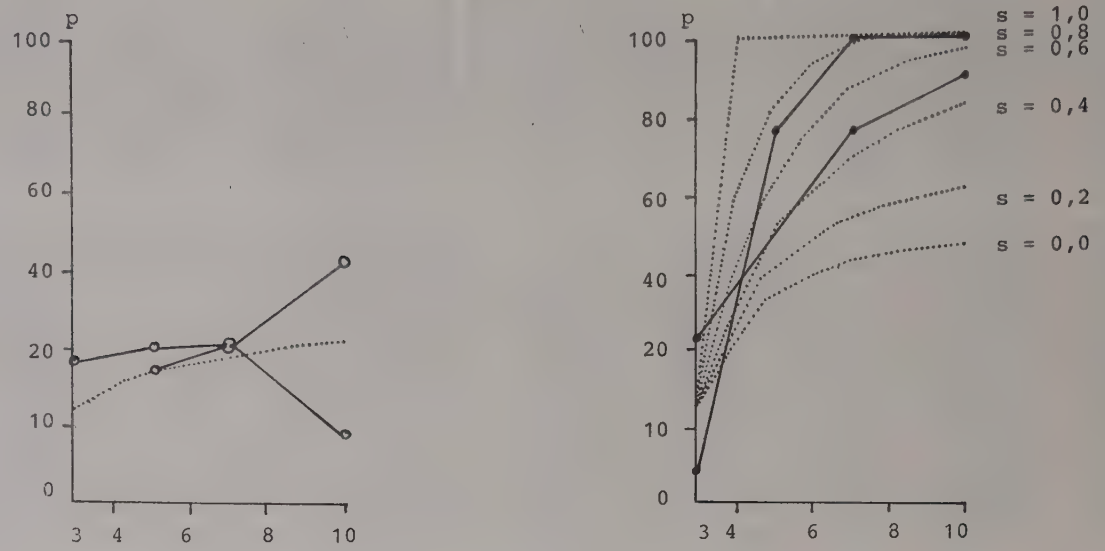


Abb. 12: Vergleich der gefundenen Häufigkeitsänderungen des lin-Faktors in den Licht- (links) und Dunkel- (rechts) Linien mit den aus den Computersimulationen erwarteten Frequenzänderungen des Allels p (= lin-Allel Phi^{100}) im Ein-Locus-Modell. (AA = lin/lin, Aa = lin/wild, aa = wild/wild)(siehe Text).

..... = theoretische Kurven; ●——● = Linien im Dunkeln; o——o = Linien im Licht

zeigt den Verlauf der theoretischen Kurve für die Populationen im Licht und die experimentellen Daten der beiden Lichtlinien.
In den Linien unter Lichtausschluss wird die natürliche Selektion durch den Selektionsdruck auf Dunkeltüchtigkeit überlagert. Für die Fitnesskomponente Fertilität ergeben sich für die wild/wild Genotypen bzw. für die lin/lin Genotypen eindeutige Werte mit W_{aa} = 0,0 und W_{AA} = 1,0. Unbekannt ist jedoch, ob der lin-Faktor auch in den A/a Heterozygoten wirkt. Wie aber aus Tab. 23 zu erkennen ist, treten in der F_3-Generation und später im Dunkeln noch zahlreiche Heterozygote auf. Aus dem Auftreten von Heterozygoten auch noch in späteren Generationen ist der Schluss zu ziehen, dass das lin-Allel nicht vollständig rezessiv ist. Es dürften sonst bereits in der F_4-Nachkommenschaft nur noch Tiere, homozygot für das lin-Allel, auftreten, da dann nur diese im Dunkeln paaren könnten. Demzufolge wurden die Fitnesswerte W_F für den Paarungserfolg im Dunkeln im Modell für die Selektion unter Lichtausschluss folgendermassen angenommen:
Die relative Fitness der lin/lin Homozygoten (W_{AA}) ist gleich 1,0. Die relative Fitness der wild/wild Homozygoten (W_{aa}) ist gleich 0,0. Die relative Fitness der Heterozygoten wird variiert von W_{Aa} = 0,0 bis W_{Aa} = 1,0.
Die Abb. 12 zeigt den Verlauf der theoretischen Kurven für die Häufigkeiten des lin-Allels p für die verschiedenen Fitnesswerte der Heterozygoten und die experimentell ermittelten Kurven aus den Daten der beiden Dunkellinien. Der Wert s gibt den Selektionsnachteil eines Genotyps an (s = 1-W) und bezieht sich auf die Reduktion der Genweitergabe an die nächste Generation. Aus dem Vergleich der experimentellen mit den theoretischen Kurven scheint ein Selektions-

koeffizient von s = 0,6 als wahrscheinlich, was einen relativ hohen Selektionsnachteil für die Heterozygoten im Dunkeln bedeutet.

Aus den Ergebnissen der Selektionsexperimente (wild-Stamm x lin-Stamm), die im zweiten Teil dieser Arbeit durchgeführt wurden, ergibt sich zusammenfassend:

1) Ausgehend von einer Inseminationsrate von 5,6% in der F_2-Generation ergibt sich für die Selektionslinien, die im Dunkeln gehalten wurden, eine starke Zunahme auf etwa 24,4% in der F_7-Generation, während die Lichtlinien in der F_7 eine Inseminationsrate von 2,6% aufweisen. Dies ist so zu interpretieren, dass im Dunkeln die künstliche Selektion auf die Fähigkeit, lichtunabhängig paaren zu können, die natürliche Selektion in ihrer Wirkung überlagert, während in den Lichtlinien die natürliche Selektion der bestimmende Mechanismus ist.

2) Die gefunden Zunahme der Inseminationsrate der Dunkellinien ist in drei unabhängigen Linien mit einer Häufigkeitszunahme des Chromosoms E, das aus dem lin-Stamm kam, verbunden. In allen drei Linien ist dieses Chromosom in der F_{10}-Generation häufiger als 90,0%, während für alle anderen Autosomen ähnliche grosse Häufigkeitsänderungen nicht nachweisbar waren. Dies wird so interpretiert, dass auf dem E-Chromosom der oder die Faktoren für die Dunkeltüchtigkeit liegen.

3) Mit Hilfe von Computersimulationen wurde die Fitness der Heterozygoten im Dunkeln abgeschätzt. Der ermittelte Fitnesswert von 0,4 ergibt, dass der lin-Faktor im Dunkeln schwach dominant wirkt.

V. Zusammenfassende Diskussion

Sexuelles Verhalten ist einer der effektiven Mechanismen, die die Eigenständigkeit einer Art garantieren. Es gehört daher zu den evolutiv bedeutsamen Phänomenen. Dabei ist als Besonderheit zu nennen, dass evolutive Veränderungen des sexuellen Verhaltens stets derartig sein müssen, dass weibliche und männliche Individuen trotz ihrer unterschiedlichen Verhaltensweisen noch unter- und aufeinander reagieren. Ein Überblick über die Literatur ergibt zahlreiche Beobachtungen, die die Interaktionen zwischen Männchen und Weibchen von Drosophila während des Werbungs- und Paarungsverhaltens beschreiben (Spiess, 1970). Obwohl in den meisten Experimenten zu diesem Zweck Tiere, homozygot für sichtbare Mutanten, verwendet wurden, somit also der genetische Hintergrund meist unbekannt war, ergibt sich doch zusammenfassend, dass Tiere aus verschiedenen Laborstämmen beträchtliche Unterschiede im Paarungsverhalten und Paarungserfolg zeigen (Spiess, 1970; Ehrman, 1978). Schliesslich ergeben diese Bobachtungen auch, dass der Paarungserfolg im allgemeinen stärker von den Weibchen abhängig ist, die auch normalerweise unter den werbenden Männchen, das Männchen, das ihrer eigenen Art zugehört, auswählen. Unter verschiedenen vorhandenen artzugehörigen Männchen bevorzugen sie oft eine bestimmte Sorte (Spiess, 1982).

Die genetische Determination des sexuellen Verhaltens von Drosophila konnte durch Selektionsexperimente, in denen künstlich auf die Fähigkeit, langsam oder schnell paaren zu können, selektioniert wurde (Manning, 1961; Manning and Hirsch, 1971), nachgewiesen werden. Jedoch ist das zugrundeliegen-

de Polygensystem noch relativ unverstanden. Eine besondere Schwierigkeit ist dabei, dass neben den sexuellen Verhaltensweisen auch noch andere Faktoren von Bedeutung sind. So konnte zum Beispiel für verschiedene Drosophilaarten gezeigt werden, dass Männchen, die im Normalfall auf Grund einer bestimmten Eigenschaft im Experiment benachteiligt sind, dann überhäufig kopulieren können, wenn gleichzeitig Männchen eines anderen Stammes in der Überzahl sind (eine Zusammenfassung geben Petit und Ehrman, 1969). Weiter beeinflussen natürlich auch Umweltfaktoren, wie Temperatur, Nährmedium, Aufzuchtbedingungen, Individualdichte, Alter der Tiere und Lichtdas sexuelle Verhalten und den Paarungserfolg wesentlich (Spiess, 1970).

Licht kann als eine der Umweltkomponenten betrachtet werden, die auf das sexuelle Verhalten von Organismen direkt einwirken. Insekten nutzen ihr visuelles System für die Navigation, Orientierung und Erkennung ihrer Umwelt. Licht beeinflusst auch die motorische Aktivität und den circadianen Rhythmus. Den Einfluss des Lichts auf das Paarungsverhalten von Drosophila hat Grossfield (1972) zusammenfassend betrachtet. Er konnte zeigen, dass, während die kosmopolitischen Arten von Drosophila lichtunabhängig sind, alle untersuchten endemischen Arten, mit Ausnahme von D. pseudoobscura, bedingt lichtabhängig im Paarungsverhalten sind. Dabei können Geschwisterarten oder Rassen einer Art im Grad ihrer Lichtabhängigkeit variieren.

Die hier untersuchte Art D. subobscura ist in ihrem Werbungs- und Paarungsverhalten obligat lichtabhängig. Trotzdem gelang es Springer (1973), aus einem Laborstamm, der auf Wildfänge aus der Um-

gebung von Wien zurückging, einen Stamm zu selektionieren, der im Dunkeln gehalten werden kann (= lin-Stamm). Auch Andjelković und Marinković (1979) konnten durch schrittweise Selektion einen Laborstamm etablieren, dessen Tiere im Dunkeln kopulieren können. Die Heretabilität dieser Fähigkeit beträgt 0,633 für den jugoslawischen Dunkelstamm. Aus dem Selektionserfolg muss geschlossen werden, dass natürliche Populationen polymorph für die Eigenschaft, lichtunabhängig paaren zu können, sind.

In der vorliegenden Arbeit wurde die genetische Grundlage der Dunkeltüchtigkeit des lin-Stammes untersucht. Im ersten Teil der Arbeit konnte gezeigt werden, dass der lin-Stamm für die Autosomen I und E sowohl für Enzymloci wie auch für chromosomale Strukturtypen im Gegensatz zur Ausgangspopulation monomorph ist. Für die Chromosomen O und U konnte ein Polymorphismus für insgesamt drei Enzymloci gefunden werden.
Im zweiten Teil der Arbeit wurden Selektionsexperimente, die mit Tieren des lin-Stammes und mit Markierungsstämmen angesetzt worden waren, durchgeführt. Die Populationen waren in der F_1-Generation jeweils aufgeteilt worden und eine Linie war unter absolutem Lichtausschluss und eine Linie im Licht über acht Generationen gehalten worden. Die enzymelektrophoretische und cytologische Untersuchung der verschiedenen Selektionslinien zeigte, dass in drei unabhängigen Linien im Dunkeln, in denen das Chromosom E markiert war, innerhalb von acht Generationen das E-Chromosom des lin-Stammes über 90% Häufigkeit erreicht. Für keines der anderen drei Autosomen konnte eine ähnliche Häufigkeitsänderung in den Linien im Dunkeln beobachtet werden. Die Linien, die im Licht gehalten worden

waren, ergaben dagegen für keines der vier Autosomen innerhalb des Untersuchungszeitraumes eine eindeutige Frequenzverschiebung. Somit kann angenommen werden, dass die Dunkeltüchtigkeit des lin-Stammes vorwiegend auf einem autosomalen Gen des E-Chromosoms beruht.

Das Phänomen der Lichtabhängigkeit des Paarungsverhaltens wurde auch bei anderen Drosophilaarten studiert. Untersuchungen über die genetische Grundlage und den Vererbungsmodus dieses Merkmals wurden zum Beispiel bei zwei Arten der quinaria- bzw. der melanogaster-Gruppe durchgeführt (Grossfield, 1966; 1970). Die Kreuzung der lichtunabhängigen Art D. palustris, mit der lichtabhängigen Art D. subpalustris (beide aus der quinaria-Gruppe) lässt erkennen, dass hier die Fähigkeit, im Dunkeln kopulieren zu können, durch ein einziges autosomales Gen determiniert ist, wobei das Allel für Dunkeltüchtigkeit rezessiv ist. Ausserdem beeinflusst das X-Chromosom den Grad der Expression der Verhaltensänderung. Auch bei D. auraria (melanogaster-Gruppe) scheint die Lichtunabhängigkeit der Balz durch einen rezessiven autosomalen Erbmodus bestimmt zu sein. Für die Körperfarbenmutante "ebony" von D. melanogaster konnte Jacobs (1960, 1961) zeigen, dass Tiere, homozygot für ebony, gleichzeitig ein verändertes sexuelles Verhalten zeigen. Interessant im Vergleich zu der hier untersuchten lin-Mutante von D. subobscura erscheint dabei besonders, dass die ebony-Tiere im Dunkeln besser paaren können als die Wildtiere von D. melanogaster. Auch dort beruht die Änderung des Sexualverhaltens darauf, dass einerseits die ebony-Männchen ein weniger differenziertes Werbungsritual zeigen und andererseits die ebony-

Weibchen eine höhere Paarungsbereitschaft haben.

Obwohl also über die genetische Grundlage der Lichtabhängigkeit relativ viel bekannt ist, ist die ontogenetische Entwicklung vom Gen zum Geneffekt noch wenig verstanden. Hier sollen zwei verschiedene Denkmöglichkeiten für die primäre Wirkung eines solchen "Verhaltengens" innerhalb des Polygensystems für sexuelles Verhalten erörtert werden:

1) Die Mutation kann ein Strukturgen betreffen. Hier würde zum Beispiel ein Gen die Beantwortung von bestimmten Reizen, visueller, chemischer oder akustischer Art, bestimmen. Die Auswirkungen auf das Sexualverhalten wären dann nur indirekt, da nur die Reizmodalität determiniert wird.
2) Die Mutation kann ein Regulationsgen betreffen, das die Ontogenese von Schaltmustern im Nervensystem determiniert. Hier ist eine direkte Wirkung auf das Verhaltensmuster zu erwarten, da durch die neuralen Verschaltungen über die Möglichkeit der Ausführung von bestimmten Verhaltensbewegungen entschieden wird. Die Mutation eines übergeordneten Regulationsgens kann dann ganze Reaktionskomplexe verändern.
   Ein physiologisches Modell einer solchen primären Genwirkung muss davon ausgehen, dass das betreffende Gen bestimmte Strukturen im Zentralnervensystem determiniert. So könnte zum Beispiel die Ausbildung von Motoneuronen genetisch gesteuert werden. Diese Vorstellung konnte an einem einfachen Organismus verifiziert werden (White, Albertson and Anness, 1978). White und seine Mitarbeiter untersuchten Mutanten von Caenorhabditis elegans und fanden

dabei, dass bei einer der Verhaltensmutanten bestimmte synaptische Verbindungen, die für den Wildtyp charakteristisch sind, nicht aufgebaut werden. Eine Korrelation einer Verhaltensstörung mit veränderten neuroanatomischen Gehirnstrukturen konnte auch für Mutanten von D. melanogaster mit gestörter optomotorischer Reaktion nachgewiesen werden (Heisenberg, Wonneberger and Wolf, 1978).
Könnte sich hiermit auch eine Interpretation für das Verhalten des lin-Stammes ergeben? Ein physiologisches Modell, das unvollständig bleiben muss, da unter anderem auch hormonelle Wirkungen nicht berücksichtigt werden können, könnte folgendermassen konstruiert werden: Im Mittelpunkt steht das Zentralnervensystem. Hier finden sowohl Reizperzeption wie auch Reizbeantwortung statt. Visuelle, chemische oder taktile Reize werden dabei über die Sinnesorgane aufgenommen und ans Zentralnervensystem geleitet. Daraufhin werden die entsprechenden Reaktionen ausgelöst, die als Verhaltensbewegungen beobachtbar sind. Die Verhaltensbewegungen können wieder selbst als Reize wirken und in einem Rückkopplungsmechanismus den nächsten Schritt auslösen. Das gesamte System wird durch einen Mechanismus gehemmt und durch einen bestimmten Faktor initiiert. Bezogen auf das Sexualverhalten von D. subobscura würden visuelle Reize den Beginn der Werbungsphase auslösen, andere visuelle, taktile oder chemische Reize dann in Verbindung mit den verschiedenen Verhaltenselementen den Ablauf des ganzen Rituals bis zur Kopulation bestimmen. Die gesamte Reaktionskette der nacheinander ausgelösten Verhaltensweisen der beiden Partner würde so über ein Rückkopplungssystem gesteuert. Licht wäre hierbei der

entscheidende Faktor, der den Hemmmechanismus unterbricht.
Das Allel für Dunkeltüchtigkeit könnte nun an zwei Stellen in dieses System eingreifen. Erstens könnte der lin-Faktor als Strukturgen die Bedeutung von chemischen oder taktilen Reizen so viel höher werden lassen, dass das Licht als Initiationskomponente nicht mehr nötig wäre. Zweitens könnte der lin-Faktor aber auch den Hemmungsmechanismus selbst ausschalten, womit der lin-Faktor eher als Regulationsgen einzustufen wäre. Durch eine Art von Kurzschluss würde dann die Auslösung der meisten Komponenten des Werbungsrituals übersprungen und unmittelbar die Kopulation eingeleitet.

Aus den filmisch dokumentierten Beobachtungen des Werbungs- und Paarungsverhaltens des lin-Stammes scheint die zweite Interpretation des lin-Faktors als Regulationsgen wahrscheinlicher. Das einerseits normalerweise vollständige Ausfallen des Komplexes "Balztanz" und andererseits das vereinzelte und unkoordinierte Auftreten von Einzelkomponenten des Werbungsverhaltens bei lin-Tieren sind durch die Wirkung eines einzigen Strukturgens allein nicht erklärbar. Es wird angenommen, dass der lin-Faktor auf dem Chromosom E von D. subobscura eine Regulationsfunktion hat, die im lin-Stamm durch Homozygotie in den entsprechenden Informationsbereichen bei allen Tieren gewährleistet ist.

Obwohl entsprechend den Ergebnissen der Selektionsexperimente der lin-Faktor unvollständig rezessiv zu sein scheint, scheint er sich in natürlichen Populationen von D. subobscura nicht durchsetzen zu können. Ein Hinweis für die mög-

liche Ursache dieser Diskrepanz ergibt sich aus dem Vergleich der Ergebnisse der verschiedenen Fertilitäts- und Inseminationstests des lin-Stammes und verschiedener Wildstämme. Die Fertilitätsrate des lin-Stammes im Licht entspricht etwa der der Vergleichsstämme Fo und W-66 und beträgt 65%. Die Inseminationsrate für den lin-Stamm im Dunkeln betrug 71%, womit der lin-Stamm im Dunkeln und im Licht einen etwa gleichbleibenden Paarungserfolg besitzt, wenn Fertilität und Inseminationsrate als gleichwertige Grössen betrachtet werden. Im Gegensatz dazu zeigte sich, dass Tiere des lin-Stammes, wenn über 20 Generationen im Licht gehalten (= lin^{L20}-Linie), eine stark reduzierte Paarungsbereitschaft sowohl im Licht (= 9%) wie auch im Dunkeln (=31%) besitzen. Dieses Ergebnis zeigt, dass der lin-Stamm, wenn im Licht gehalten, Veränderungen in seinem genetischen System erfährt, die jedoch zu keiner Rückkehr zum Wildtyp führen. Dieses Ergebnis muss so interpretiert werden, dass der lin-Stamm zwar durch gerichtete Selektion homozygot für Gene auf dem E-Chromosom wurde und damit die Eigenschaft Dunkeltüchtigkeit erwarb, aber gleichzeitig wahrscheinlich auch Veränderungen in anderen Genorten, die das sexuelle Verhalten allgemein determinieren, sich ereigneten, die eine erneute Rückkehr zum Wildtyp verhindern oder verzögern. Diese Genorte könnten auf den Chromosomen O und U lokalisiert sein, da beide Chromosmen trotz starker Inzucht des lin-Stammes noch polymorph für Enzymallele sind.

VI. Zusammenfassung

Die genetische Grundlage der Verhaltensänderung eines Laborstammes von D. subobscura (lin-Stamm), der im Gegensatz zu allen Wildstämmen der Art im Dunkeln kopulieren kann, wurde untersucht. Es wurde gefunden:

(1) Der lin-Stamm unterscheidet sich von Wildstämmen von D. subobscura durch ein reduziertes Werbungsverhalten. Tiere dieses Stammes führen keinen Balztanz aus.

(2) Der lin-Stamm unterscheidet sich genetisch vom Ausgangsstamm. In allen vier Autosomen ist der lin-Stamm monomorph für den häufigsten chromosomalen Strukturtyp des Ausgangsstammes. Ausserdem ist der lin-Stamm in acht von elf Enzymloci, die im Ausgangsstamm polymorph sind, fixiert für ein Allel. Die drei noch polymorphen Loci sind auf den Chromosomen O und U lokalisiert.

(3) Selektionsexperimente, die mit lin- und Wildtieren gestartet worden waren, ergaben, dass die Dunkeltüchtigkeit des lin-Stammes durch ein oder mehrere Gene, die auf dem Chromosom E lokalisiert sind, determiniert ist.

(4) Mit Hilfe von Computersimulationen konnte gezeigt werden, dass der lin-Faktor unvollständig rezessiv ist und die Paarungsfitness der Heterozygoten lin/wild unter Lichtausschluss etwa 0,4 ist, wenn die der lin/lin-Homozygoten gleich 1 und die der wild/wild-Homozygoten gleich 0 ist.

(5) Aus den Ergebnissen der Fertilitäts- und Inseminationstests kann geschlossen werden, dass die Selektion auf Dunkeltüchtigkeit gleichzeitig Veränderungen an anderen Genorten, die das komplexe System des Sexualverhaltens determinieren, bedingt. Zwar verliert der lin-Stamm nach einigen Generationen im Licht langsam wieder die Dunkeltüchtigkeit, aber die geringere Fertilität der lin^{L20}-Linie deutet darauf hin, dass im lin-Stamm Gene fixiert sind, die nicht unmittelbar die lin-Eigenschaft determinieren, allerdings eine Rückkehr des Stammes zum Wildtyp verhindern. Dieses Gene könnten auf den Chromosomen O und U lokalisiert sein.

VII. Literatur

Andelković, M. and D. Marinković: Selection for the copulation ability of Drosophila suboscura in dark conditions. Abstr. 6th Europ. Drosophila Res. Conf. Kupari (1979)

Ayala, F.J., J.R. Powell, H.L. Tracey, C.A. Mourao and S. Pereź-Salas: Enzym variability in the Drosophila willistoni group. III. Genic variation in natural populations of Drosophila willistoni. Genetics 70, 113-119 (1972)

Brown, R.G.B.: Courtship behaviour in the Drosophila obscura group. Part. II. Comparative studies. Behaviour 25, 281-323 (1965)

Clarke, C.A. and P.M. Sheppard: Super-Genes and mimicry. Heredity 14, 175-185 (1960)

Cook, R.: The extent of visual control in the courtship tracking of D. melanogaster. Biol. Cybernetics 37, 41-51 (1980)

Demerec, M.: Biology of Drosophila. Wiley, New York 1950

Dobzhansky, Th. and B. Spassky: Genetics of natural populations. XXXIV. Adaptive norm, genetic load and genetic elite in Drosophila pseudoobscura. Genetics 48, 1467-1485 (1963)

Dobzahnsky, Th., L. Ehrman and P.A. Kastritsis: Ethological isolation between sympatric and allopatric species of the obscura group of Drosophila. Anim. Behav. 16, 79-87 (1968)

Ehrman, L.: Sexual behavior. In: Ashburner, M. and T.R.F. Wright (eds.) The genetics and biology of Drosophila, 2b, 127-166 (1978), Academic Press, London

Elens, A.A. and J.M. Wattiaux: Direct observation of sexual isolation. D.I.S. 39, 118-119 (1964)

Ewing, A.W. and H.C. Bennet-Clark: The courtship songs of Drosophila. Behaviour 31, 288-301 (1968)

Frisch, K. von: Aus dem Leben der Bienen. Springer Verlag Berlin (1977)

Grossfield, J.: The influence of light on the mating behavior of Drosophila. Studies in Genetics IV. Univ. Texas Publ. 6615, 147-176 (1966)

Grossfield, J.: Evidence for the genetic control of a complex behavior in Drosophila. Genetics 64, 27 (1970)

Grossfield, J.: The use of behavioral mutants in biological control. Behavior Genetics 2, 311-319 (1972)

Heisenberg, M. and E. Buchner: The role of retinula cell types in visual behavior of Drosophila melanogaster. J. comp. Physiol. 117, 127-162 (1977)

Heisenberg, M., R. Wonneberger and R. Wolf: Optomotor blind^{H31} - a Drosophila mutant of the lobula plate giant neurons. J. comp. Physiol. 124, 287-296 (1978)

Jacobs, M.E.: Influence of light on mating of Drosophila melanogaster. Ecology 41, 182-188 (1960)

Jacobs, M.E.: The influence of light on gene frequency changes in laboratory populations of ebony and nonebony Drosophila melanogaster. Genetics 46, 1089-1095 (1961)

Jones, J.S. and T. Yamazaki: Genetic background and the fitness of allozymes. Genetics 78, 1185-1189 (1974)

Kekić, V. and D. Marinković: Multiple-choice selection for light preference in Drosophila subobscura. Behavior Genetics 4, 285-300 (1974)

Kojima, K. and H.E. Schaffer: Survival process of linked mutant genes. Evolution 21, 518-531 (1967)

Krimbas, C.B.: The genetics of Drosophila subobscura populations. I. Inversion polymorphism in populations of southern Greece. Evolution 18, 541-552 (1965)

Krimbas, C.B. and M. Loukas: The inversion polymorphism of Drosophila subobscura. Evolutionary Biology 12, 163-234 (1980)

Kunze-Mühl, E. und D. Sperlich: Inversionen und chromosomale Strukturtypen bei Drosophila subobscura. Coll. Z. indukt. Abstamm. u. Vererb.-Lehre 87, 65-84 (1955)

Kunze-Mühl, E. und E. Müller: Weitere Untersuchungen über die chromosomale Struktur und die natürlichen Strukturtypen von Drosophila subobscura Coll. Chromosoma (Berl.) 9, 559-570 (1958)

Kunze-Mühl, E., E. Müller und D. Sperlich: Qualitative, quantitative und jahreszeitliche Untersuchungen über den chromosomalen Polymorphismus natürlicher Populationen von Drosophila subobscura Coll. in der Umgebung von Wien. Z. Vererb.-Lehre 89, 636-646 (1958)

Lankinen, F. and W. Pinsker: Allozyme constitution of two standard strains of Drosophila subobscura. Experientia 33, 1301 (1977)

Lorenz, K.: Vergleichende Bewegungsstudien an Anatiden. J. Ornithol. 89, 194-293 (1941)

Lorenz, K.: Das angeborene Erkennen. Natur und und Volk 84, 285-295 (1954)

Mainx, F., Th. Koske und E. Smital: Untersuchungen über die chromosomale Struktur europäischer Vertreter der D. obscura-Gruppe. Z. ind. Abstamm. n. Vererb.-Lehre 85, 354-372 (1953)

Manning, A.: The effects of artificial selection for mating speed in Drosophila melanogaster. Anim. Behav. 9, 82-92 (1961)

Manning, A. and J. Hirsch: The effects of artificial selection for slow mating in Drosophila simulans. II. Genetic analysis of the slow mating line. Anim. Behav. 19, 448-453 (1971)

Marinković, D., J. Ayala and M. Andjelković: Genetic polymorphism and phylogeny of Drosophila subobscura. Evolution 32, 164-173 (1978)

Mather, K.: Polymorphism as an outcome of disruptive selection. Evolution 9, 52-61 (1955)

Maynard Smith, J.: Fertility, mating behavior and sexual selection in Drosophila subobscura. J. Genet. 54, 261-279 (1956)

Mayr, E.: Artbegriff und Evolution. Paul Parey Verl. Hamburg-Berlin (1967)

Milani, R.: Osservationi sul coteggiamento di Drosophila subobscura Collin. Rend. Ist. lomb. 84, 3-14 (1951)

Monclus, M. and A. Prevosti: The relationship between mating speed and wing lenght in Drosophila subobscura. Evolution 25, 214-217 (1971)

Nei, M.: Molecular population genetics and evolution. North-Holland Publ. Comp. Amsterdam (1975)

Petit, C. and L. Ehrman: Sexual selection in Drosophila. Evolutionary Biology 3, 177-223 (1969)

Philip, U., J.M. Rendel, H. Spurway and J. Haldane: Genetics and karyology of Drosophila subobscura. Nature 154, 260-262 (1944)

Pinsker, W. and E. Doschek: On the role of light in the mating behavior in Drosophila subobscura. Z. Naturforsch. 34, 1253-1260 (1979)

Pinsker, W. and D. Sperlich: Allozyme variation in natural populations of Drosophila subobscura along a north-south gradient. Genetica 50, 207-219 (1979)

Pinsker, W. and E. Doschek: Courtship and rape: The mating behavior of Drosophila subobscura in light and darkness. Z. Tierpsychol. 54, 57-70 (1980)

Pinsker. W., P. Lankinen and D. Sperlich: Allozyme and inversion polymorphism in a central european population of Drosophila subobscura. Genetica 48, 207-214 (1978)

Prazmo, W.: Cytogenetic studies on the genus Aquilegia. III. Inheritance of the traits distinguishing different complex in the genus Aquilegia. Acta. Soc. Bot. Polonia 34, 403-437 (1965)

Preuss, V.: Light-dependent and light-independent mating of D. subobscura. D.I.S. 50, 155 (1973)

Prevosti, A.: Chromosomal polymorphism in western mediterranean populations of Drosophila subobscura. Genet. Res. 7, 149-158 (1966)

Rasmuson, M., B. Rasmuson and L.R. Nilson: A study of isozyme polymorphism in experimental populations of Drosophila melanogaster. Hereditas 57, 263-274 (1967)

Rendel, J.M.: Genetics and cytology of Drosophila subobscura II: Normal and selection mating in Drosophila subobscura. J.Genet. 46, 287.302 (1945)

Saura, A., S. Lakovaara, J. Lokki and P. Lankinen: Genic variation in central and marginal populations of Drosophila subobscura. Hereditas 75, 33-46 (1973)

Shaw, Ch.R. and R. Prasad: Starch gel electrophoresis of enzymes- A compilation of recipes. Biochem. Genet. 4, 297-320 (1970)

Sperlich, D.: Unterschiedliche Paarungsaktivität innerhalb und zwischen verschiedenen geographischen Stämmen von Drosophila subobscura. Z. Vererb.-Lehre 98, 10-15 (1966)

Sperlich, D.: Populationsgenetik. Gustav Fischer Verlag Stuttgart (1973)

Sperlich, D. und H. Feuerbach: Ist der chromosomale Strukturpolymorphismus von Drosophila subobscura stabil oder flexibel? Z. Vererb.-Lehre 98, 16-24 (1966)

Sperlich, D. and A. Karlik: The genetic conditions in heterozygous and homozygous populations of Drosophila. I. The fate of alien chromosomes. Genetica 41, 265-304 (1970)

Sperlich, D., W. Pinsker and P. Pfriem: Inversion, allozyme and lethal frequencies in natural populations of Drosophila subobscura. Genetika (Yugos.) 12, 91-101 (1980)

Sperlich, D., W. Pinsker and V.G. Mitrofanov: Genetic characterization of a natural population of Drosophila subobscura from the northern caucasus (U.S.S.E.) in comparison with other population samples. Genetica 54, 329-334 (1981)

Sperlich, D., A. Karlik and P. Pfriem: Genetic properties of experimental founder populations of Drosophila melanogaster. Biol. Zbl. 101, 395-411 (1982)

Spiess, E.B.: Mating propensity and its genetic basis in Drosophila. In: Essays in Evolution and Genetics in Honor of Theodosius Dobzhansky. Hecht, M.K. and W.C. Steere (eds.) Appleton-Century Grofts, New York (1970)

Spiess, E.B.: Do female flies choose their mates? Am Nat. 119, 675-693 (1982)

Spieth, H.T.: Mating behavior within the genus Drosophila (Diptera). Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 99, 398-474 (1952)

Spieth, H.T.: Evolutionary implications of sexual behabior in Drosophila. Evolutionary Biology 2, 157-193 (1968)

Springer, R.: Light-independent mating, probably a dominant character of behaviour in Drosophila subobscura. D.I.S. 50, 133 (1973)

Sved, J.A. and F.J. Ayala: A population cage test for heterosis in Drosophila pseudoobscura. Genetics 66, 97-113 (1970)

Thielcke, G.: Vogelstimmen. Springer Verl. Berlin (1970)

Tinbergen, N.: Instinktlehre. Paul Parey Verl. Berlin (1972)

Wallace, B. and Th. Dobzhansky: Experiments on sexual isolation in Drosophila. VIII. Influence of light on the mating behavior of Drosophila subobscura, Drosophila persimilis and Drosophila pseudoobscura. Proc. Nat. Acad. Sci. 32, 226-234 (1946)

White, J.G., D.G. Albertson and M.A.R. Anness: Connectivity changes in a class of motoneuron during the development of a nematode. Nature 271, 764-766 (1978)

Zollinger, E.: Ein strukturell homozygoter Stamm von Drosophila subobscura aus einer Wildpopulation. Archiv Klaus Stiftg. 25, 33-35 (1950)

Meine wichtigsten akademischen Lehrer waren:

Universität Düsseldorf:

L. Birkofer
J. van Calker
U. Heber
O. Hess
W. Kuchen
F. Leyhausen
W. Peters
G. Schneider
W. Stubbe
G. Zachariae

Universität Tübingen:

D. Bader
K. G. Grell
J. Grunewald
J. Guglielmi
G. F. Meyer
G. Mickoleit
K. Schmidt-Koenig
J. Schmitt
W. Seyffert
D. Sperlich
P. Wenk

L E B E N S L A U F

18.06.1949	Geboren als Tochter des Neurologen Dr. med. Richard Aldinger und seiner Ehefrau Gertrud Aldinger, geb. Kern, in Waiblingen.
1956-1960	Volksschule in Winnenden (Kreis Waiblingen und in Marburg/Lahn
1960-1966	Elisabethgymnasium in Marburg/Lahn
1966-1968	Königin-Luise-Gymnasium in Köln
29.05.1968	Abitur am Königin-Luise-Gymnasium in Köln
1968-1970	Zweijähriges Praktikum der Pharmazie
23.09.1970	Pharmazeutisches Vorexamen in Köln.
1970-1971	Studium der Philosophie an der Universität in Köln.
Ab WS 1971/72	Studium der Biologie
1971-1973	Universität Düsseldorf
04.10.1973	Vordiplom in Biologie
ab SS 1974	Universität Tübingen
1977-1978	Diplomarbeit unter Anleitung von Prof. Dr. P. Wenk am Tropenmedizinischen Institut der Universität Tübingen
04.07.1978	Diplom in Biologie (Hauptfach: Zoologie).
Seit 1979	Anfertigung der vorliegenden Dissertation am Institut für Biologie II, Lehrstuhl für Populationsgenetik der Universität Tübingen unter Anleitung von Prof. Dr. D. Sperlich.

Druck und Gesamtherstellung:

Bölk & Schulz · Kopier- und Drucktechnik
Bismarckstr. 92
7400 Tübingen · Tel. 07071/32321